

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 1960 — N° 33

---

# Cholestérol et Cholestérolémie en Pathologie Vétérinaire

Etude sur les dosages colorimétriques  
du cholestérol sérique

---

## THÈSE

présentée à la

FACULTE de MEDECINE et de PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 7 décembre 1960

pour obtenir le grade de DOCTEUR-VETERINAIRE

par

**Auguste CHEVET**

Né le 29 Décembre 1929 à La SUZE-sur-SARTHE (Sarthe)



Imprimerie Générale Lyonnaise  
32, cours Gambetta, 32 - LYON



**Cholestérol et Cholestérolémie**  
**en Pathologie Vétérinaire**

**Etude sur les dosages colorimétriques**  
**du cholestérol sérique**



# **Cholestérol et Cholestérolémie en Pathologie Vétérinaire**

**Etude sur les dosages colorimétriques  
du cholestérol sérique**

## **THÈSE**

présentée à la

FACULTE de MEDECINE et de PHARMACIE DE LYON

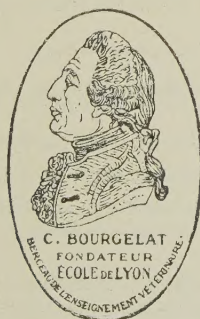
et soutenue publiquement le 7 décembre 1960

pour obtenir le grade de DOCTEUR-VETERINAIRE

par

**Auguste CHEVET**

Né le 29 Décembre 1929 à La SUZE-sur-SARTHE (Sarthe)



Imprimerie Générale Lyonnaise  
32, cours Gambetta, 32 - LYON

# PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

---

|                                  |              |
|----------------------------------|--------------|
| Directeur . . . . .              | M. TAPERNOUX |
| Directeur honoraire . . . . .    | M. JUNG      |
| Professeurs honoraires . . . . . | M. DOUVILLE  |
|                                  | M. CUNY      |

---

## PROFESSEURS

|                                                                                                                         |               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Physique et Chimie biologiques, Pharmacie, Toxicologie, Hygiène et Inspection du lait . . . . .                         | M. TAPERNOUX  |
| Anatomie descriptive, Anatomie appliquée . . . . .                                                                      | M. BARONE     |
| Physiologie, Pharmacodynamie, Thérapeutique, Matière médicale . . . . .                                                 | M. BOST       |
| Histologie, Embryologie, Tératologie, Anatomie pathologique, Inspection des aliments d'origine animale . . . . .        | M. LUCAM      |
| Zoologie appliquée, Botanique appliquée, Parasitologie                                                                  | M. EUZEBY     |
| Technique chirurgicale, Pathologie chirurgicale . . . .                                                                 | M. COLLET     |
| Propédeutique, Sémiologie et Pathologie des Monogastriques, des Oiseaux et Ruminants, Législation Vétérinaire . . . . . | M. FLORIOT    |
| Pathologie médicale du bétail et des Animaux de basse-cour . . . . .                                                    | M. COTTEREAU  |
| Pathologie de la reproduction, Obstétrique . . . . .                                                                    | M. BERTRAND   |
| Pathologie générale et Microbiologie, Maladies légalement contagieuses et Police sanitaire . . . . .                    | M. JOUBERT    |
| Agronomie, Economie rurale, Zootechnie générale et génétique, Ethnologie, Hygiène, Alimentation . . . .                 | M. JEAN-BLAIN |

## CHEFS DE TRAVAUX

MM. MAGAT, FERNEY, FLACHAT, RUCKENBUCH : Agrégés

MM. BUSSIERAS, OUDAR, PAVOT

Assistants : VAN HAVERBEKE, CLAUDE

---

## EXAMINATEURS DE THESE :

Président : M. LEVRAT

Premier Assesseur : M. FLORIO

Deuxième Assesseur : M. BERTRAND

---

La Faculté de Médecine et l'Ecole Nationale Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.



Je dédie ce travail :

A MES PARENTS

A MES BEAUX-PARENTS

A MA FEMME

A MES ENFANTS

A MES FRERES ET SŒURS

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

A Monsieur le Professeur LEVRAT  
*de la Faculté de Médecine de Lyon*

Qui nous a fait le très grand honneur  
d'accepter la présidence de notre jury de  
thèse.

Hommage respectueux et reconnaissant.



A Monsieur le Professeur FLORIO

*de l'Ecole Vétérinaire de Lyon*

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse  
et auprès duquel nous avons toujours trouvé  
un accueil bienveillant.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression  
de notre vive gratitude et de notre profond  
respect.

A Monsieur le Professeur BERTRAND

*de l'Ecole Vétérinaire de Lyon*

Qui a bien voulu être notre Juge.

Témoignage de respectueuse gratitude.

A TOUS NOS MAITRES  
DE L'ECOLE VETERINAIRE DE LYON

## INTRODUCTION

Contrairement à la notion ancienne qui faisait du cholestérol une substance de déchet, celui-ci joue un rôle important au sein de l'organisme et la mesure de la cholestérolémie se justifie par les précisions intéressantes qu'elle apporte à la connaissance clinique de bon nombre de processus morbides.

C'est pourquoi nous avons consacré ce modeste travail à l'étude du cholestérol en adoptant le plan suivant :

Connaissances acquises sur le cholestérol du point de vue chimique, physiologique et pathologique.

Exposition de deux méthodes de dosage du cholestérol sérique : la méthode de Grigaut et la méthode de Bloor.

Comparaison des résultats obtenus avec ces deux méthodes au cours d'un certain nombre de dosages.

Etude des facteurs susceptibles de modifier les résultats obtenus avec ces méthodes.

Valeurs moyennes de la cholestérolémie normale, chez différentes espèces animales, données par la méthode de Grigaut et la méthode de Bloor.

Conclusions qui s'imposent sur la pratique des dosages du cholestérol sérique.



## PREMIERE PARTIE

# I - LE CHOLESTEROL DU POINT DE VUE CHIMIQUE

Découvert dans la seconde moitié du XVIIIème siècle, mis en évidence dans les calculs biliaires plus tard, dénommé « cholestérine » en 1815 par Chevreul pour rappeler ses origines biliaires, le cholestérol reçut son nom définitif en 1920, en raison de sa fonction alcool et de sa structure chimique, qui le firent classer dans le groupe des stérols.

En effet, le cholestérol possède la structure tétracyclique de Diels caractérisant les stéroïdes et sur ce squelette se fixe une chaîne latérale à 8 atomes de carbone. Sa fonction alcool secondaire lui permet de se combiner aux acides, principalement aux acides gras pour donner des cholestérides, les stérides étant les esters des stérols avec les acides gras.

Dans sa formule existent 8 carbones asymétriques qui permettent de distinguer un nombre respectable d'isomères actifs sur la lumière polarisée ; cette configuration optique revêt une certaine importance lorsqu'on connaît les différences d'activité physiologique entre les isomères optiques d'un même corps chimique.

Le cholestérol est soluble dans l'éther et le chloroforme, propriété importante pour son dosage ; par contre, il est insoluble dans l'eau et il doit sa solubilité dans le sérum sanguin au cenapses qu'il forme avec les protéines sériques.

En outre, il présente des réactions colorées, en particulier celle de Liebermann servant à son dosage : le cholestérol en solution chloroformique mis en présence d'anhydride acétique et d'acide sulfurique donne une coloration verte qui lui est spécifique.

Nous avons dit précédemment que le cholestérol possède la structure tétracyclique de Diels ; ceci revient à dire que sa formule, comme celle de « l'hydrocarbure de Diels » ou  $\gamma$  méthyl cyclopenténophénanthrène, comporte 3 cycles hexagonaux unis comme dans le phénanthrène et liés à un quatrième cycle pentagonal, ce cycle pentagonal portant la chaîne latérale linéaire. De fait, le cholestérol dérive de « l'hydrocarbure de Diels » car on obtient cet hydrocarbure par déshydrogénation du cholestérol. Mais de nombreux corps importants en biologie et en pathologie donnent par déshydrogénation le même carbure : ce sont les stérols animaux et végétaux, les acides biliaires, les hormones sexuelles et cortico-surrénales, les vitamines antirachitiques, les saponines, les carbures cancérigènes... Donc il faut admettre qu'un lien chimique unit toutes ces substances dérivant du même carbure fondamental de Diels. D'ailleurs les travaux modernes sur le métabolisme du cholestérol dans l'organisme sont venus confirmer la filiation qui existe entre le cholestérol et de nombreuses substances actives dans l'organisme comme les acides biliaires et les hormones citées précédemment.

## II - LE CHOLESTEROL DANS L'ORGANISME

### 1) Origine du cholestérol de l'organisme.

Elle est double, l'organisme recevant d'une part du cholestérol alimentaire et synthétisant, d'autre part, une fraction importante de son cholestérol.

#### a) Origine exogène, alimentaire :

L'alimentation apporte des stérols végétaux contenus dans les aliments d'origine végétale et du cholestérol contenu uniquement dans les aliments d'origine animale.

Certains aliments sont riches en cholestérol comme les œufs, le beurre, le foie, par contre d'autres en sont assez pauvres comme le lait. La faculté de traverser la paroi intestinale lors de la digestion (ou digestibilité) du cholestérol est particulière à chaque espèce ; elle semble être influencée par la forme où se trouve le cholestérol, par le régime alimentaire et, en particulier, par les graisses.

#### b) Origine endogène, anabolique :

Il semble logique de l'envisager puisque l'organisme élimine beaucoup plus de cholestérol qu'il n'en reçoit par l'alimentation. La synthèse du cholestérol dans l'organisme a été bien démontrée, dans les travaux modernes, par l'administration de produits marqués qui permettent de suivre une chaîne métabolique depuis les éléments de base jusqu'au terme final.

En 1937, Schoenheimer et Rittenberg administrant de l'eau lourde à des souris constatent que 50 % de l'hydrogène du cholestérol est remplacé par du deutérium. En 1954, Hellman et ses collaborateurs ont prouvé que cette synthèse se fait surtout à partir des acétates et qu'elle se produit très rapidement : 30 minutes après l'injection d'acétates marqués on trouve déjà du cholestérol marqué dans l'organisme, à raison de 50 % dans le foie et 40 % dans l'intestin.

**Le foie est le principal centre de l'anabolisme du cholestérol**, il fournit le cholestérol à l'organisme entier ; cependant, d'autres organes ont la même fonction dans des limites plus restreintes, ce sont la corticosurrénale, le testicule et l'ovaire où le cholestérol synthétisé est le précurseur des hormones corticosurrénaliennes et sexuelles ; ce sont également le poumon, le rein, la rate, la peau et même le placenta semble-t-il.

Les radicaux acétates nécessaires à la synthèse tirent leur origine de la dégradation normale des acides aminés, des glucides et des lipides, principalement des acides gras ; ils seraient assemblés par l'intervention d'un facteur d'acétylation, le coenzyme A, pour constituer le premier chaînon de la chaîne métabolique dont l'acide oléique et le squalène, à la structure moléculaire déjà plus complexe, pourraient constituer des étapes intermédiaires.

## **2) Etat et répartition du cholestérol dans l'organisme.**

Le cholestérol peut se présenter sous deux formes dans l'organisme : une forme dite libre et une forme estérifiée par combinaison avec les acides, acides gras principalement. Cette réaction d'estérification équilibrée et réversible, catalysée par la cholestérol estérase est considérée comme le fait uniquement du foie ; c'est pourquoi on attribue classiquement à la mesure du taux d'estérification du cholestérol la valeur d'un test d'exploration de la fonction hépatique. Chevalier et Coursaget en administrant du cholestérol avec du carbone 14 à des rats ont montré que sa répartition est variable entre les différents organes : le cholestérol marqué se retrouve, par ordre de quantités décroissantes, dans le foie et l'intestin surtout, puis dans le sérum et les globules sanguins, enfin dans la rate, le poumon, le cœur, le cortex surrénalien, le testicule et l'ovaire.

L'état du cholestérol est également variable avec les organes envisagés : le foie l'intestin, le cortex surrénalien, les glandes sexuelles contiennent du cholestérol libre et du cholestérol estérifié en quantité importante ; par contre, les autres tissus de l'organisme contiennent soit du cholestérol libre (c'est le cas des globules sanguins et du cerveau) soit du cholestérol estérifié en quantité beaucoup plus faible.

Le taux élevé de cholestérol rencontré dans un organe ne signifie pas qu'il participe activement aux transformations métaboliques de ce corps ; au contraire, son cholestérol peut être statique comme celui du cerveau et en cela essentiellement différent du cholestérol actif,

mobile, du sérum sanguin, du foie, de l'intestin et de la cortisurrénale.

### 3) Le cholestérol sanguin et la régulation cholestérolémique ,

Comme nous venons de le voir les globules du sang ne contiennent que du cholestérol libre alors que le plasma possède à la fois du cholestérol libre et du cholestérol estérifié.

Qu'il soit estérifié ou libre, le cholestérol plasmatique est rendu hydrosoluble par combinaison physique avec les protéines sous forme de cenapses tout comme les lipides auxquels il est le plus souvent associé, une fraction phospholipidique s'intercalant entre cholestérol et protéine dans le cenapse. L'électrophorèse et l'ultracentrifugation qui permettent de séparer les différentes fractions pratéiques du plasma montrent que le cholestérol serait localisé principalement au niveau des fractions protéiniques  $\alpha$  et  $\beta$ .

**L'existence d'une régulation cholestérolémique** semble indiquée par le fait que la cholestérolémie est assez basse à la naissance du sujet pour augmenter lentement ensuite jusqu'à atteindre la normale (Baylac et Sendrail).

Le poumon paraît avoir un rôle important et complexe dans cette régulation, il manifeste des propriétés lipopexiques et cholestérolytiques lui permettant de retenir du cholestérol et d'en détruire une fraction, assez faible à la vérité, comme on le reconnaît. Les dosages du cholestérol globulaire et plasmatique à l'entrée et à la sortie du poumon indiquent que au cours de la traversée le cholestérol du plasma est partiellement déplacé vers les globules ; certains ont pensé que ce phénomène est lié aux fonctions respiratoires et se produit en sens inverse au niveau des tissus.

Outre le poumon, la rate intervient dans la régulation du cholestérol sanguin car le sang sortant de la rate est plus riche en cholestérol que celui qui arrive. Une des principales sources de cholestérol serait la reprise par le sang de celui provenant de la désintégration des cellules vieilles et surtout des hématies, d'où le rôle important du système réticuloendothélial et de la rate dans le métabolisme du cholestérol ; le fait que la cholestérolémie augmente au cours des affections hémolytiques témoigne dans le même sens.

La thyroïde exerce également une influence sur le taux de cholestérol sanguin ; l'augmentation de la fonction thyroïdienne s'accompagne d'hypocholestérolémie et inversement.

#### 4) Destinée du cholestérol

##### a) Elimination sous forme de cholestérol :

Le cérumen, le sébum, le sperme, le lait, la sueur éliminent de très faibles quantités de cholestérol. Deux émonctoires seraient susceptibles de se charger de cette élimination : le rein et l'intestin, mais il ne sort que de faibles quantités de cholestérol par la voie urinaire et la voie digestive. Il existe un cycle entérohépatique du cholestérol ce qui explique le manque d'élimination digestive : le cholestérol trouvé dans le milieu intestinal est apporté par la bile et surtout sécrété par la muqueuse intestinale : il est estérifié par les acides gras libérés au cours de la digestion et retourne au foie par la veine porte sous forme d'esters ; le foie fait le stockage de ces esters et sa cholestérol-estérase libère ensuite les acides gras qui participent à la formation des phospholipides pendant que le cholestérol retourne à la bile et à la muqueuse intestinale.

##### b) Elimination sous formes dégradées.

Le métabolisme du cholestérol aboutit à des produits de dégradation au niveau des différents organes.

**Dans l'intestin,** une faible partie du cholestérol est hydrogénée en coprostanol et en cholestanol sous l'influence de diastases microbiennes et s'élimine dans les selles.

**Par la bile** s'élimine du cholestérol dégradé sous forme d'acides biliaires, la filiation entre le cholestérol et les acides biliaires a été bien démontrée par l'administration de cholestérol marqué. L'injection de deutérocholestérol pratiquée par Bloch et Rittenberg, chez des animaux, entraîne la formation d'acide cholique ayant une concentration en isotope identique à celle du cholestérol sanguin. On pense que 75 % environ du cholestérol circulant sont éliminés sous forme d'acides biliaires après avoir participé à plusieurs cycles entérohépatiques, cependant, il faut remarquer que les acides biliaires subissent également un cycle entérohépatique et ne sont pas rejetés hors de l'organisme aussi vite qu'on pourrait le penser.

En perfusant des **glandes surrénales** avec un sang contenant du cholestérol marqué on a pu fixer les étapes de la biosynthèse des stéroïdes du cortex surrénalien : le cholestérol est l'élément précurseur des stéroïdes corticaux et, donne naissance aux hormones du cortex tout comme il donne naissance aux **hormones sexuelles** androgènes et

œstrogènes. Ces hormones dérivant du métabolisme du cholestérol sont éliminées sans modification ou sous forme de métabolites dans les urines et les selles, ou complètement dégradées en CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O.

Enfin, pour beaucoup d'auteurs, une faible quantité de cholestérol serait complètement détruite dans l'organisme, mais ce dernier mode d'élimination, et le plus grand nombre de ceux envisagés précédemment, ne constituent pas un moyen important pour l'organisme de se débarrasser de son cholestérol ; la seule voie vraiment efficace est l'élimination biliaire.

### 5) Rôle physiologique du cholestérol.

**Le cholestérol intervient au niveau de la cellule dans la régulation de son imbibition** en modifiant les entrées et les sorties de l'eau. On suppose que cette régulation s'effectue sous l'influence de différents facteurs liés par la formule :

$$\text{eau d'imbibition} \times \frac{\text{acides gras} \times \text{lécithines ou phospholipides}}{\text{cholestérol}} = K \text{ (constante).}$$

Il possède un rôle protecteur important vis-à-vis des globules rouges soumis à l'action hémolysante de certaines substances comme les acides gras, les savons, les saponines, les hémolysines parasitaires et les venins des serpents. On comprend l'importance du cholestérol libre trouvé dans les globules rouges si on admet que ce cholestérol libre se combine aux substances hémolysantes par sa fonction alcool, le cholestérol estérifié n'ayant pas cette possibilité. Ce rôle protecteur s'exerce, particulièrement dans les conditions physiologiques, contre les savons issus de la digestion des graisses et absorbés par la muqueuse intestinale.

**Le cholestérol joue un rôle important semble-t-il dans la protection de l'organisme** contre les processus d'autointoxication et d'intoxication d'origine exagène, microbienne ou toxinique. Selon Darraspen et Florio, lors d'intoxication urémique et chez les chiens azotémiques, l'aggravation de l'état général et la proximité de la mort s'accompagnent d'une chute de la cholestérolémie. Ces auteurs pensent également que l'augmentation de la cholestérolémie au cours des atteintes graves de l'organisme traduit la mise en œuvre des réactions

de défense, alors que la chute de la cholestérolémie semble signifier l'abdication de ces défenses devant l'agression. En effet, l'étude des variations de la cholestérolémie au cours des maladies infectieuses des animaux a montré d'une part un abaissement progressif de la cholestérolémie au cours des infections graves et durables et d'autre part, un relèvement de la cholestérolémie au moment de la crise aiguë ou pendant la période de convalescence.

**Dans l'absorption et le transport des lipides le cholestérol est un agent actif et essentiel**, surtout au niveau du plasma sanguin. Les acides gras libérés par les phénomènes digestifs traversent la paroi intestinale et circulent ensuite dans le sang à l'état d'esters du cholestérol : comme nous l'avons vu déjà, cette estérification est réalisée par le foie sous la forme d'une réaction réversible catalysée par la cholestérol-estérase. Donc l'estérification du cholestérol et l'hydrolyse de ses esters se produisent de façon continue dans le foie répondant aux besoins de l'organisme. Les acides gras après l'hydrolyse hépatique contribuent à la formation des phospholipides alors que le cholestérol libre est estérifié à nouveau par des acides gras, ou participe également à la formation des phospholipides. En effet, les phospholipides circulants sont synthétisés dans le foie à partir d'une partie du cholestérol, ce dernier subissant une phosphorylation en présence de la choline, comme on a pu s'en apercevoir en marquant le cholestérol. La con-

phospholipides .

naissance du rapport  $\frac{\text{phospholipides}}{\text{cholestérol}}$  semble intéressante puis-

qu'elle donne des renseignements sur la fonction hépatique, tout comme le taux d'estérification du cholestérol sanguin.

Ainsi les mouvements des lipides entre l'intestin, le foie, les tissus de réserve et les lieux d'utilisation sont effectués par le sang, les lipides étant rarement sous forme de gouttelettes de graisses neutres, mais principalement sous forme de phospholipides et d'esters du cholestérol assemblés dans les cenapses avec des protéines plasmatiques. L'intervention déterminante du cholestérol dans le métabolisme des lipides explique que les variations de la cholestérolémie sont parallèles le plus souvent à celles de la lipémie.

**Enfin le cholestérol intervient indirectement dans les phénomènes physiologiques** par tous les dérivés qu'il peut donner, acides biliaires, hormones stéroïdes surrénales et sexuelles. La stimulation de la

fonction ovarienne par l'administration de gonadotrophines ou celle de la corticosurrénale par l'administration d'hormone corticotrope entraîne une diminution de la teneur en cholestérol de la glande et parallèlement une augmentation de la synthèse des hormones spécifiques ou de leur élimination urinaire.

### III - LE CHOLESTEROL EN PATHOLOGIE ANIMALE

Les variations du cholestérol ont été étudiées principalement sur le sang facile à prélever et dont le cholestérol abondant joue un rôle primordial dans l'organisme par sa mobilité.

Depuis 1928 le Professeur Darraspen, avec ses élèves et collaborateurs dont le Professeur Florio, a fait de nombreuses recherches à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse sur la cholestérolémie et la signification de ses variations pathologiques chez les animaux domestiques. Ces auteurs se sont intéressés également à la mesure du pouvoir cholestérolitique du sérum dans certains processus pathologiques et plus

cholestérol estérifié  
récemment à l'étude des rapports ————— et  
Cholestérol total  
cholestérol total  
————— dans le sérum des animaux.  
phospholipides

#### 1) Variations pathologiques de la cholestérolémie et leur valeur clinique :

L'étude du cholestérol total dans le sang d'animaux normaux, à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse, a donné les chiffres suivants déterminant l'intervalle de variation physiologique en dehors duquel il y a hypocholestérolémie ou hypercholestérolémie.

Chez le cheval : 0,40 à 0,80 g 0/00

Chez les bovins : 0,60 à 1,45 g 0/00

Chez le chien : 0,85 à 1,80 g 0/00

Etant donnés les liens étroits unissant le métabolisme des graisses et celui du cholestérol nous ne serons pas étonnés de voir, paral-

lèlement à la surcharge grasseuse du sang d'origine variable, évoluer une hypercholestérolémie qui n'en est en fait que le témoin. C'est le cas dans les néphrites, le diabète, l'obésité, la gravidité, les troubles d'origine alimentaire liés à un régime riche en cholestérol et en graisses.

**Chez la vache gestante** on a relevé une hypercholestérolémie constante avec un taux de cholestérol total de 2,34 g 0/00 en moyenne mais qui peut atteindre 3,40 g 0/00 ou plus. La cholestérolémie augmente régulièrement pendant toute la gestation, prend sa valeur maximum pendant les jours précédant l'accouchement et subit une chute rapide vers la normale dans les jours suivant cet événement. Cette hypercholestérolémie pourrait avoir deux origines: d'une part l'état d'autointoxication gravidique contre lequel se défend l'organisme, d'autre part la tendance naturelle à l'embonpoint des femelles gravides qui augmentent leurs graisses de réserve et leur musculature par prédominance des phénomènes anaboliques sur les phénomènes cataboliques dans l'organisme ; la première cause agissant plutôt en fin de gestation et la seconde plutôt en début de gestation.

**Dans l'obésité du chien** l'hypercholestérolémie initiale est inconsistante car on relève des taux de cholestérol normaux ; cependant elle est très fréquente et se situe entre 1,80 g 0/00 et 3,50 g 0/00.

**Au cours des néphrites** on note des variations de la cholestérolémie que Darraspen et Florio ont bien étudié chez le chien. Lorsqu'il s'agit de néphrites suraiguës rapidement mortelles, comme il en évolue souvent au cours de la maladie de Carré, le taux de cholestérol total reste normal jusqu'aux approches de la mort ; à ce moment on enregistre une hypocholestérolémie brusque et d'autant plus importante que l'agonie est plus longue, 0,40 g 0/00 étant le chiffre le plus bas enregistré, mais s'il s'agit de néphrites aiguës, moins graves, évoluant pendant plusieurs jours, la cholestérolémie augmente progressivement pendant la période d'état, atteint au maximum, 3,50 g 0/00 et lentement redevient normale lors de guérison, dans le cas contraire l'hypocholestérolémie précède la mort et est d'autant plus marquée que la mort tarde à venir. Enfin dans les néphrites chroniques la cholestérolémie reste normale tant que le chien conserve son apparence de bonne santé et que l'hypertrophie cardiaque permet l'élimination urinaire des déchets en compensant l'insuffisance du rein. Par contre l'hypercholestérolémie se manifeste au cours des poussées congestives qui émaillent l'évolution du processus chronique, le taux de cholesté-

rol sanguin parfois voisin de 3 g 0. 00 reste élevé pendant toute la durée de l'accès congestif pour ne redevenir normal que lors de la guérison, la mort étant annoncée comme toujours par l'hypocholestérolémie. Puis, après un temps plus ou moins long, arrive la période terminale caractérisée par l'insuffisance cardiaque définitive, l'intoxication urémique inexorable, alors l'hypocholestérolémie s'installe progressivement annonciatrice de l'issue fatale, le taux de cholestérol est très bas lors de la mort, 0,20 g 0. 00 à 0,30 g 0. 00. Les constantes sanguines comme le taux d'urée, la chlorémie, la réserve alcaline du plasma, dont la perturbation indique la gravité du processus, évoluent de façon comparable à la cholestérolémie ce qui confirme la valeur pronostique des variations de la cholestérolémie. L'urée et le chlore sanguins subissent les mêmes modifications que le cholestérol chaque fois qu'il y a guérison, la réserve alcaline restant normale pendant l'hypercholestérolémie ; mais si l'évolution s'achemine vers la mort, l'hypocholestérolémie s'installe pendant que l'azotémie et la chlorémie augmentent beaucoup, la réserve alcaline diminuant parallèlement à la cholestérolémie. Donc l'hypercholestérolémie est constante à la période d'état des néphrites aiguës et au cours des accès congestifs de la néphrite chronique ; cette hypercholestérolémie accompagne l'évolution favorable et semble être sinon un moyen de lutte contre l'intoxication par rétention de déchets toxiques, du moins un témoin de la réaction organique, alors que l'hypocholestérolémie annonce la mort.

**Dans les maladies infectieuses** graves la cholestérolémie peut s'abaisser beaucoup et persister à un taux très bas ce qui entraîne un pronostic très défavorable; au contraire dans les maladies bénignes il y a hypercholestérolémie contemporaine d'un état de défense vigoureuse de l'organisme. On peut même dire que l'augmentation ou la diminution de la cholestérolémie sont en rapport direct avec la bénignité ou la gravité de la maladie. A la période de convalescence on observe le plus souvent une hypercholestérolémie qui est d'autant plus importante que la maladie a été plus sévère et plus longue, c'est-à-dire que l'hypocholestérolémie de la période d'état a été plus nette. Comme pour la néphrite chronique, lorsque l'évolution comporte des accès, chaque accès est accompagné d'une hypercholestérolémie marquée. Chez le cheval, l'infection morveuse chronique entraîne fréquemment une baisse de la cholestérolémie qui évolue parallèlement à l'altération de l'état général, cette hypocholestérolémie semble être le témoin fidèle de « l'abdication d'un organisme défaillant » selon la conception de Darraspen et Florio, abdication dont la responsabilité

peut être attribuée aussi bien à l'infection morveuse elle-même qu'à l'état de déchéance des animaux.

**Les affections hépatiques** retentissent également sur le cholestérol sanguin: lors de rétention biliaire pure la cholestérolémie augmente en même temps qu'évolue ou non l'ictère comme le montre la ligature du canal cholédoque chez le chien. L'insuffisance hépatique, beaucoup plus fréquente chez les animaux, n'entraîne pas de variations caractéristiques de la cholestérolémie permettant un diagnostic certain ; de nombreux dosages pratiqués chez le cheval et le chien en font foi. Cependant la cholestérolémie a ici encore une bonne valeur pronostique, l'hypercholestérolémie est un gage fidèle d'évolution favorable qui traduit la réaction de l'organisme alors que l'hypocholestérolémie signe l'abdication de ces mêmes processus de défense. La cirrhose, rare à l'état pur chez les carnivores et les autres animaux, s'accompagne d'une hypocholestérolémie constante, mais le fait qu'elle soit concomitante d'une néphrite ou d'une atteinte cardiaque le plus souvent incite à la prudence dans l'interprétation de la variation du taux de cholestérol.

**Au cours des affections cardio-vasculaires** la cholestérolémie est très variable, elle ne paraît pas avoir de relations avec la tension artérielle et reste normale tant que les émonctoires de l'organisme fonctionnent de façon suffisante pour éviter l'accumulation de substances toxiques.

**Parmi les affections oculaires du chien** l'hydrophtalmie, les cataractes quelle que soit leur étiologie et les rétinobulbaires ne sont pas associées à des variations significatives de la cholestérolémie. Il faut cependant nuancer cette opinion en disant que lors de rétinobulbaires évoluant au cours de Maladie de Carré ou lors de cataractes dites urémiques, concomitantes de néphrites chroniques, la cholestérolémie se comporte comme dans la maladie causale, maladie de Carré ou néphrite chronique ; mais de toutes façons ces variations ne renseignent pas sur l'étiopathogénie de l'affection oculaire ; elles confirment simplement ce que nous savons à propos de la néphrite chronique ou des maladies infectieuses.

De tout ceci, il apparaît que la cholestérolémie n'apporte le plus souvent aucune aide dans le diagnostic, toutefois il est des cas où elle permet de préciser ce diagnostic : dans le syndrome immobilité du cheval l'hydropisie ventriculaire peut avoir pour origine le développement d'un cholestéatome des plexus choroïdes cérébraux ; l'hypercho-

lestérolémie importante qui l'accompagne permet d'affirmer la présence du cholestéatome si l'on reconnaît les signes de l'immobilité. Par contre, la cholestérolémie permet d'établir un pronostic dans de nombreuses maladies, comme nous venons de le voir. **D'un point de vue très général** « l'hypercholestérolémie paraît bien être la traduction sanguine d'un phénomène de défense et de réaction organiques » assurant un pronostic favorable, tandis que l'hypocholestérolémie témoigne d'une atteinte profonde de l'état général au cours de l'évolution des processus morbides et assombrit le pronostic en laissant entrevoir l'issue fatale.

## 2) Les variations du pouvoir cholestérolitique du sérum sanguin.

Un sérum mis en contact avec une solution de cholestérol peut dissoudre une certaine quantité du cholestérol de la solution : il a un pouvoir cholestérolitique positif ; si, au contraire, le sérum précipite dans la solution une partie de son propre cholestérol : son pouvoir cholestérolitique est alors négatif ; enfin ce pouvoir peut être nul.

Les variations du pouvoir cholestérolitique d'un sérum sont parfois indépendantes de celles de son cholestérol total, un pouvoir cholestérolitique négatif peut très bien coexister avec une cholestérolémie normale. Donc ce pouvoir cholestérolitique rend compte des aptitudes du sérum à précipiter son cholestérol et donne des renseignements que la cholestérolémie n'est pas apte à fournir, surtout si l'on fait la courbe de ses variations au cours de l'évolution de l'affection. Si la cholestérolémie ne varie pas chez les animaux en fonction de leur âge plus ou moins avancé, par contre le **pouvoir cholestérolitique se trouve modifié par l'âge**. En effet, Darraspen et Florio mesurant ce pouvoir chez le chien entre (10 et 15 ans et chez le cheval au-delà de 16 ans l'ont trouvé négatif dans 90 % des cas au moins. En tenant compte du fait que les affections chroniques évoluent surtout pendant la vieillesse, celle-ci doit, semble-t-il être considérée comme « un état précipitant » de l'organisme.

D'autre part l'étude du pouvoir cholestérolitique dans un certain nombre de maladies a permis de les qualifier de « précipitantes » à cause de la négativité de ce pouvoir : l'obésité chez le chien s'accompagne de façon constante d'un pouvoir cholestérolitique négatif associé le plus souvent à une hypercholestérolémie, la cataracte du chien et l'iridocyclite du cheval montre ce même pouvoir précipitant du sérum avec une cholestérolémie variable, souvent augmentée. La négati-

tivité du pouvoir cholestérololytique du sérum est également très fréquente dans la néphrite chronique urémigène du chien et du cheval et dans l'insuffisance hépatique du chien, la cholestérolémie étant, par ailleurs, basse dans la néphrite et variable dans l'insuffisance hépatique. Le pouvoir cholestérololytique a l'avantage sur la cholestérolémie de préciser la stabilité de la dissolution du cholestérol dans le sang, mais en dehors de ceci la cholestérolémie, indépendante de l'âge, conserve la valeur pronostique que nous lui avons attribuée précédemment.

Si nous avons fait mention « d'états précipitants » du sérum jusqu'alors sans parler d'arthérosclérose c'est parce que cette dernière n'est qu'exceptionnellement mise en évidence, spontanément, chez les animaux (V. Ball) sauf peut être, chez les oiseaux. Dans le but d'élucider ce problème de pathologie humaine et principalement de connaître le rôle du cholestérol on a cherché à la provoquer expérimentalement chez de nombreuses espèces d'animaux de laboratoire. Ces expériences montrent la possibilité de faire naître des lésions vasculaires chez les animaux par surcharge cholestérolée de l'organisme d'origine alimentaire le plus souvent ; mais pour réussir il faut obtenir, par des régimes très éloignés de la normale, des taux de cholestérol sanguin élevés comparativement à ceux observés chez l'homme même pathologiquement, de plus, certains auteurs nient la superposition exacte des lésions expérimentales et humaines. Par ailleurs, les différentes espèces animales ne se comportent pas de façon identique vis-à-vis de l'arthérosclérose provoquée par surcharge cholestérolée, le lapin et le poulet se montrent très sensibles, le chien l'est déjà beaucoup moins et sous certaines conditions ; quand au rat il est très réfractaire et exige un protocole expérimental sévère.

#### cholestérol estérifié

### 3) Variations du rapport $\frac{\text{cholestérol estérifié}}{\text{cholestérol total}}$

Des études de Darraspen et Florio sur le rapport cholestérol estérifié / cholestérol total chez les animaux domestiques, il découle que ce rapport propre à chaque espèce animale varie très peu pour une espèce donnée et que son abaissement constitue un **test fidèle et précoce de l'insuffisance hépatique** surtout chez le cheval et le chien. La fixité de ce rapport est assurée par la réaction réversible d'estérification du cholestérol au niveau du foie, donc l'abaissement du rapport traduit un manque d'estérification du cholestérol et une atteinte de la

cellule hépatique. Sachant que la fonction d'estérification est l'une des plus rapidement perturbée, le dépistage de l'insuffisance hépatique peut se faire précocement. Dans le cas de lésion hépatique grave la fonction de synthèse du cholestérol est amoindrie aussi, le cholestérol total du sang diminue en même temps que le cholestérol estérifié, mais le rapport finalement est encore plus bas.

Associé avec l'examen clinique, l'abaissement du rapport cholestérol estérifié / cholestérol total est un excellent test d'insuffisance hépatique, ce qui n'enlève d'ailleurs pas à l'hypocholestérolémie des formes graves sa valeur pronostique.

4) Variations du rapport  $\frac{\text{cholestérol total}}{\text{phospholipides}}$

Comme le foie transforme le cholestérol en phospholipide par phosphorylation, ce rapport doit pouvoir donner des renseignements sur la fonction hépatique dans le cas d'insuffisance. Le rapport cholestérol total / phospholipides est voisin de 1 chez le chien normal et toute variation indique une **atteinte hépato-rénale** sans précision sur l'importance des lésions respectives de ces deux organes.

## DEUXIEME PARTIE

### I - METHODES DE DOSAGE DU CHOLESTEROL SERIQUE

Nous envisagerons le dosage du cholestérol total et celui du cholestérol estérifié afin d'obtenir le rapport cholestérol estérifié / cholestérol total.

Nous avons employé deux méthodes : la méthode de Grigaut considérée comme classique en France et la méthode américaine de Bloor.

#### 1) Méthode de Grigaut.

##### a) Principe du dosage du cholestérol total et du cholestérol estérifié.

L'action d'une lessive de soude libère le cholestérol des cenapses, combinaisons physiques dans lesquelles le cholestérol libre ou estérifié est lié aux protéines sériques.

Ce cholestérol complètement libéré est alors extrait du sérum par dissolution dans l'éther qui est le meilleur solvant ; on sépare par décantation la fraction étherée qui contient le cholestérol et par évaporation de l'éther, on obtient le cholestérol. Ce dernier est repris en solution dans le chloroforme, moins volatil que l'éther pour pratiquer la réaction colorée de Liebermann-Burchardt spécifique du cholestérol et permettant le dosage colorimétrique.

Pour obtenir le cholestérol estérifié seul on élimine d'abord le cholestérol libre par combinaison avec le digitonoside au niveau de la fonction alcool du cholestérol qui n'est pas libre dans le cholestérol estérifié, la combinaison digitonosique étant insoluble, précipite. Après filtration on peut doser le cholestérol estérifié restant seul dans le filtrat par le procédé de Liebermann-Burchardt.

## b) Technique du dosage

### — Cholestérol total.

Dans une ampoule à décantation de Grigaut introduire 1 cc de sérum prélevé avec exactitude à la pipette, puis 13 cc d'alcool sodé (1,25 cc de lessive de soude à 36° B + 62 cc d'alcool à 95° eau distillée QS pour 100 cc), agiter doucement et laisser reposer 5 minutes. Introduire ensuite 15 cc d'éther sulfurique pur et agiter doucement. Enfin verser quelques gouttes de teinture de cochenille dans l'ampoule qui colore la fraction aqueuse du mélange à l'exception de la fraction étherée, agiter doucement pour éviter l'émulsion et laisser reposer le tout pendant 10 à 15 minutes. Puis décanter la partie inférieure, aqueuse, colorée, qui s'est séparée de la fraction supérieure étherée. Laver la partie étherée restée dans l'ampoule en versant 15 cc d'eau distillée, agiter doucement et ajoute quelques cc d'éther de pétrole, agiter doucement et verser quelques gouttes de teinture de cochenille, laisser reposer 10 à 15 minutes après une dernière agitation douce. Nouvelle décantation qui peut être suivie d'un second lavage identique au premier. Après toutes ces opérations on obtient la partie étherée que l'on verse dans une capsule propre et bien sèche, faire un rinçage de l'ampoule à décantation avec un peu d'éther qui est ajouté à celui de la capsule. Porter la capsule au bain marie ou au bain de sable pour avoir une évaporation rapide du solvant étheré qui laisse un dépôt de cholestérol au fond de la capsule.

Réaction colorée de Liebermann-Burchardt : dans la capsule refroidie verser 5 cc de chloroforme pur en arrosant bien les parois de la capsule, puis 2 cc d'anhydride acétique pur et enfin 5 gouttes d'acide sulfurique concentré et pur. Après avoir bien mélangé ces produits, laisser reposer 30 minutes à l'obscurité, la capsule étant couverte par un verre de montre pour éviter l'évaporation du chloroforme. Ce laps de temps écoulé, verser le liquide devenu vert dans le tube qui sert à la lecture colorimétrique faite immédiatement.

**Remarques :** La solution chloroformique extractive finale est de 5 cc et correspond à 1 cc de sérum. Les doses de réactifs employés pour la réaction colorée doivent être respectées scrupuleusement pour obtenir des intensités de coloration comparables entre elles.

Ces réactifs doivent être conservés dans des flacons hermétiquement clos et mis à l'abri de la lumière pour éviter leur altération qui entraîne de notables variations dans les mesures.

### — Cholestérol estérifié.

La technique la plus courante est celle de Fiessinger : le dosage du cholestérol estérifié se fait parallèlement à celui du cholestérol total. Sur 1 cc de sérum pratiquer les mêmes opérations que pour le dosage du cholestérol total afin d'obtenir la fraction étherée et évaporer au bain de sable, il reste dans la cupule le dépôt de cholestérol. Sans attendre que la cupule refroidisse, reprendre le dépôt de cholestérol par 5 cc de solvant E.A.C. (acétone 73 cc + eau distillée 18 cc + alcool absolu 9 cc), mélanger et replacer au bain de sable pendant quelques minutes. Ensuite ajouter 3 cc de solution de digitonoside à 0,5 % dans le solvant E.A.C., mélanger, laisser au contact 10 minutes. Filtrer sur filtre sans pli, rincer deux fois la capsule avec quelques gouttes d'éther que l'on ajoute au filtrat recueilli dans une capsule différente. Evaporer au bain de sable le filtrat dans la capsule et après refroidissement reprendre le résidu laissé par évaporation avec 10 cc de chloroforme pur.

Ensuite on pratique la coloration de Liebermann-Burchardt sur 5 cc seulement de la solution chloroformique obtenue finalement qui correspondent à 0,5 cc de sérum. On ajoute 2 cc d'anhydride acétique pur et 5 gouttes d'acide sulfurique concentré et pur. Après un repos de 30 minutes à l'obscurité on fait la lecture colorimétrique sur le liquide coloré en vert.

#### c) Lecture colorimétrique :

La coloration verte, spécifique du cholestérol, de la solution chloroformique extractive possède une intensité proportionnelle à la quantité de cholestérol extraite de la prise d'essai de sérum sanguin et mise en solution dans le chloroforme.

Pour connaître la concentration en cholestérol de la solution extractive et en déduire celle du sérum, on peut opérer de deux façons : soit comparer à l'aide d'un appareil la coloration verte de la solution extractive à celle obtenue avec une solution chloroformique de cholestérol de taux connu par la réaction de Liebermann-Burchardt ; soit faire la lecture du taux de cholestérol de la solution extractive sur une courbe d'étalonnage établie au préalable avec une gamme de solutions chloroformiques de cholestérol, de taux connus, ayant subi la réaction de Liebermann-Burchardt et soumises à l'évaluation de l'appareil qui sert également à mesurer l'intensité de la coloration de la solution extractive.

— Lecture au colorimètre optique :

Le premier principe de lecture exposé précédemment est utilisé ici avec un colorimètre optique genre colorimètre de Duboscq ou de Laurent faisant entrer en jeu des différences d'éclairement de plages lumineuses. L'appareil comporte deux cuves contenant l'une une solution étalon à 0,03 g% de cholestérol dans le chloroforme, l'autre la solution extractive à doser. Dans chaque cuve, plonge un prisme à une distance variable, mais mesurable du fond de la cuve. Un faisceau lumineux traverse chaque cuve, c'est-à-dire une hauteur variable de solution verte et le prisme correspondant en entier, et vient donner une plage lumineuse possédant un certain éclairement à la sortie du prisme. La lumière est transmise de façon propre à chaque solution et les deux plages lumineuses ont des éclairements différents. On réalise l'égalité des éclairements des deux plages lumineuses en faisant varier la hauteur de chaque solution traversée par la lumière, par déplacement vertical des prismes.

Soit  $h$  la hauteur de la colonne de solution extractive à doser, le  
 taux de cholestérol de sérum étudié est  $X \text{ g } 0'00 = \frac{h \times 15}{h'}$  sachant

que la solution étalon à 0,03 g 0'0 de cholestérol correspondant à la solution extractive d'un sérum contenant 1,5 g 0'00 de cholestérol.

— Lecture au colorimètre photo-électrique ou photo-colorimètre.

Le second principe de lecture exposé précédemment est utilisé avec un photo-colorimètre comportant une ou 2 cellules photo-électriques. Les rayons lumineux émis par une source traversent une épaisseur donnée de solution colorée verte et sont reçus par une cellule photo-électrique qui émet un courant mesuré au micro-ampèremètre. Le courant émis par la cellule est fonction de l'intensité lumineuse que lui transmet la solution verte traversée, donc finalement fonction de l'intensité de la coloration verte.

Avec la méthode de dosage de Bloor que nous exposerons plus loin, nous avons fait les lectures colorimétriques à l'aide d'un photo-colorimètre monocellulaire, l'appareil américain type « Lumétron 401 » de la « Photo-volt Corporation » de New-York dont le principe de fonctionnement vient d'être exposé. Il possède des filtres colorés à interposer devant la source lumineuse, le choix du filtre à em-

ployer se fait suivant la coloration de la solution à doser, pour la coloration verte du cholestérol nous avons pris le filtre rouge de 650 millimicrons. Dans un porte-tube coulissant, on glisse deux tubes, le premier contenant un liquide témoin, de l'eau distillée le plus souvent, dont le taux de transmission lumineuse sera considéré de 100 %, le deuxième contenant la solution colorée dont on veut connaître le taux de transmission lumineuse. Le tube témoin étant sur le trajet de la lumière, on amène par manœuvre d'un bouton de réglage l'aiguille du micro-ampère-mètre devant le chiffre 100 du cadran, puis on place la solution colorée sur le trajet de la lumière et on lit sur le cadran le taux de transmission propre à cette solution, l'influence du tube étant éliminée au cours de la 1<sup>ère</sup> opération de réglage. Avant chaque mesure, on contrôle la position sur le chiffre 100 lors de l'interposition du tube témoin.

Il faut maintenant construire la courbe d'étalonnage de l'appareil qui permet ensuite, connaissant le taux de transmission lumineuse de la solution extractive à doser, de lire sa concentration en cholestérol. On prépare une gamme de solutions chloroformiques de cholestérol de taux connus et croissants par dilution d'une solution étalon connue, puis on les colore par la réaction de Liebermann-Burchardt et à l'aide de l'appareil, on mesure les taux de transmission lumineuse correspondants.

Chaque solution donne un point sur la courbe d'étalonnage dont l'abscisse est la concentration de cette solution en cholestérol et l'ordonnée le taux de transmission lumineuse qui lui est propre. Pour lire directement sur le graphique la concentration en cholestérol du sérum dosé, on traduit en taux de cholestérol sanguin les concentrations en cholestérol des solutions de la gamme d'étalonnage, chaque solution de la gamme étant considérée comme la solution extractive d'un sérum. Les tubes employés pour les lectures doivent être en tous points identiques, même diamètre, même épaisseur, même indice de réfraction du verre, et très propres. Ces tubes doivent contenir assez de liquide pour que toute la lumière venant de la source le traverse.

Avec la méthode de dosage de Grigaut nous avons employé un photo-colorimètre bicellulaire type « U 56 AV, Electrosynthèse », genre Meunier, avec cellule de compensation. Lors du réglage préalable, les deux cellules photo-électriques montées en opposition sur le circuit électrique reçoivent la même intensité lumineuse de la source par le jeu d'un diaphragme mobile placé devant l'une des cellules.

leurs courants s'annulent, l'aiguille du micro-ampère-mètre reste au zéro. L'appareil ainsi réglé, devant l'une des cellules on place la solution colorée, elle reçoit une intensité lumineuse plus faible donc émet un courant plus faible incapable d'annuler complètement le courant émis par la deuxième cellule, l'aiguille dévie. On réalise à nouveau l'annulation des deux courants en interposant devant la deuxième cellule une portion d'un coin optique dont le déplacement est mesurable par rotation d'un tambour gradué, l'aiguille revient au zéro. Sur le tambour gradué nous allons lire successivement au cours d'une mesure: la division D0 lors du réglage préalable, la division D1 lors de l'interposition d'un tube témoin contenant de l'eau distillée et la Division D2 lors de l'interposition du tube contenant la solution colorée de densité optique inconnue.  $D1 - D0 =$  densité optique du tube témoin.  $D2 - D0 =$  densité du tube contenant la solution colorée,  $D2 - D1 =$  densité optique de la solution colorée seule. D0 et D1 sont déterminés pour une série de mesures successives. Le principe de l'étalonnage de l'appareil et de la lecture sont identiques à ceux de l'appareil précédent. On emploie également un filtre rouge dit n° 9. Les tubes de verre sont tous identiques. On laisse chauffer l'appareil quelques minutes avant de faire les mesures.

## 2) Méthode de Bloor.

### a) Principe du dosage du cholestérol total et du cholestérol estérifié :

Au lieu d'employer la soude en solution alcoolique et l'éther pour l'extraction du cholestérol, on fait agir ici une solution d'alcool-éther, c'est la seule différence avec la méthode de Grigaut quant au principe du dosage.

### b) Technique :

Il existe une technique propre à la recherche du cholestérol total isolément, nous ne l'avons pas employée puisque nous avons besoin de connaître également le cholestérol estérifié. La technique de dosage simultané du cholestérol total et du cholestérol estérifié que nous allons exposer maintenant est celle recommandée par la « Photovolt Corporation » de New-York constructeur de l'appareil « Lumétron ».

Dans un tube introduire 1 cc du sérum à doser puis 24 cc du réactif de Bloor (3 parties d'alcool à 95° pour 1 partie d'éther). Bien boucher le tube avec un bouchon de caoutchouc propre et agiter vigoureusement pendant 1 minute, ensuite laisser reposer le tube hori-

zontalement pendant 30 minutes. Filtrer rapidement, puis sur le filtrat se feront successivement maintenant les opérations suivantes :

— **Dosage du cholestérol total** : prélever 5 cc du filtrat clair obtenu, les mettre dans un petit bécher et évaporer au bain-marie jusqu'à siccité complète sans plus. Reprendre le résidu par 5 cc de chloroforme rectifié versé en plusieurs fois, par petites quantités successivement introduites dans une éprouvette bouchée à l'émeri.

Coloration de Liebermann-Burchardt: ajouter alors 5 cc de chloroforme acéto-sulfurique préparé extemporanément (24 cc de chloroforme rectifié + 15 cc d'anhydride acétique pur + 1 cc d'acide sulfurique concentré et pur), mélanger avec soin, placer l'éprouvette contenant les 10 cc de liquide au bain-marie à 26-27° C, dans l'obscurité, pendant neuf minutes **exactement**. Ce laps de temps passé, verser dans un tube de lecture colorimétrique et faire la lecture à la dixième minute exactement.

— **Dosage du cholestérol estérifié**: prélever 10 cc du filtrat clair obtenu précédemment, les introduire dans un petit bécher et ajouter 1 cc de solution alcoolique de digitonine (1 g de digitonine + 100 cc d'alcool éthylique à 45°). Evaporer le contenu du bécher jusqu'à siccité, sans plus. Reprendre le résidu par 3 à 4 cc d'éther de pétrole et filtrer. Le filtrat est évaporé à nouveau jusqu'à siccité sans prolonger inutilement la dessiccation.

Reprendre le résidu par 5 cc de chloroforme versé par petites quantités introduites successivement dans une éprouvette bouchée à l'émeri. Coloration de Liebermann-Burchardt et lecture à la dixième minute exactement comme pour le cholestérol total.

— **Différence avec la méthode de Grigaut** :

On agite vigoureusement le mélange lors de l'extraction.

La coloration de Liebermann se fait avec des doses de réactifs qui ne sont pas tout à fait identiques.

La solution chloroformique extractive finale après coloration a un volume de 10 cc et correspond à 0,2 cc de sérum pour le cholestérol total et à 0,4 cc de sérum pour le cholestérol estérifié.

**c) Lecture colorimétrique :**

Elle a été exposée précédemment à propos de la méthode de Grigaut. Nous avons employé l'appareil « Lumétron 401 » de la Photovolt Corporation de New-York lors de nos expériences.

### 3) Construction des courbes d'étalonnage pour le cholestérol total :

a) Méthode de Grigaut avec lecture au photocolorimètre « Electro-synthèse ».

On prépare une solution étalon de cholestérol dans le chloroforme à 0,8 g 0/00 en introduisant 0,08 g de cholestérol dans 100 cc de chloroforme, 5 cc de cette solution contiennent 0,004 g de cholestérol tout comme les 5 cc de chloroforme reprenant le résidu d'évaporation final lors du dosage par la méthode de Grigaut d'1 cc de sérum à 4 g 0/00 de cholestérol.

Pour obtenir la gamme de solutions chloroformiques de cholestérol nécessaire à l'étalonnage on prélève des volumes croissants de la solution étalon que l'on dilue avec des volumes décroissants de chloroforme de façon à avoir un volume constant de 5 cc. On calcule ensuite à quel taux de cholestérol sanguin correspond chaque solution de la gamme et on pratique la coloration de Liebermann-Burchardt, selon la méthode de Grigaut, sur ces solutions. Puis on mesure à l'aide du photocolorimètre la densité optique de chaque solution colorée en vert.

Nous exposons les résultats obtenus au cours de l'opération d'étalonnage qui a précédé les dosages du paragraphe suivant (figure 1).

Gamme de solutions servant à l'étalonnage et mesure de leurs densités optiques :

| Volume de solution étalon à 0,8 g 0/00 | Volume de chloroforme | Taux de cholestérol sérique correspondant | D2<br>(D0 = 0<br>(L1 = 7 | D =<br>D2 — D1 |
|----------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------------|--------------------------|----------------|
| 0,5 cc                                 | 4,5 cc                | 0,4 g 0/00                                | 8                        | 1              |
| 1 —                                    | 4 —                   | 0,8 —                                     | 9                        | 2              |
| 1,5 —                                  | 3,5 —                 | 1,2 —                                     | 10,5                     | 3,5            |
| 2 —                                    | 3 —                   | 1,6 —                                     | 12                       | 5              |
| 2,5 —                                  | 2,5 —                 | 2,0 —                                     | 14                       | 7              |
| 3 —                                    | 2 —                   | 2,4 —                                     | 18                       | 11             |
| 3,5 —                                  | 1,5 —                 | 2,8 —                                     | 20,5                     | 13,5           |
| 4 —                                    | 1 —                   | 3,2 —                                     | 24                       | 17             |
| 4,5 —                                  | 0,5 —                 | 3,6 —                                     | 26,5                     | 19,5           |
| 5 —                                    | 0 —                   | 4,0 —                                     | 29,5                     | 22,5           |

La même courbe d'étalonnage peut servir pour lire le **cholestérol estérifié** à condition de multiplier le résultat par deux puisque le dosage est réalisé en fait sur 0,5 cc de sérum au lieu de 1 cc.

**b) Méthode de Bloor avec lecture au photocolorimètre « Lumétron ».**

La solution étalon de cholestérol dans le chloroforme est à 0,16 g 0/00, ce taux est tel que 5 cc de cette solution contiennent 0,0008 g de cholestérol tout comme les 5 cc de chloroforme reprenant le résidu d'évaporation final lors du dosage par la méthode de Bloor de 0,2 cc d'un sérum à 4 g 0/00 de cholestérol (figure 2).

Gamme de solutions servant à l'étalonnage et mesure de leurs taux de transmissions lumineuse :

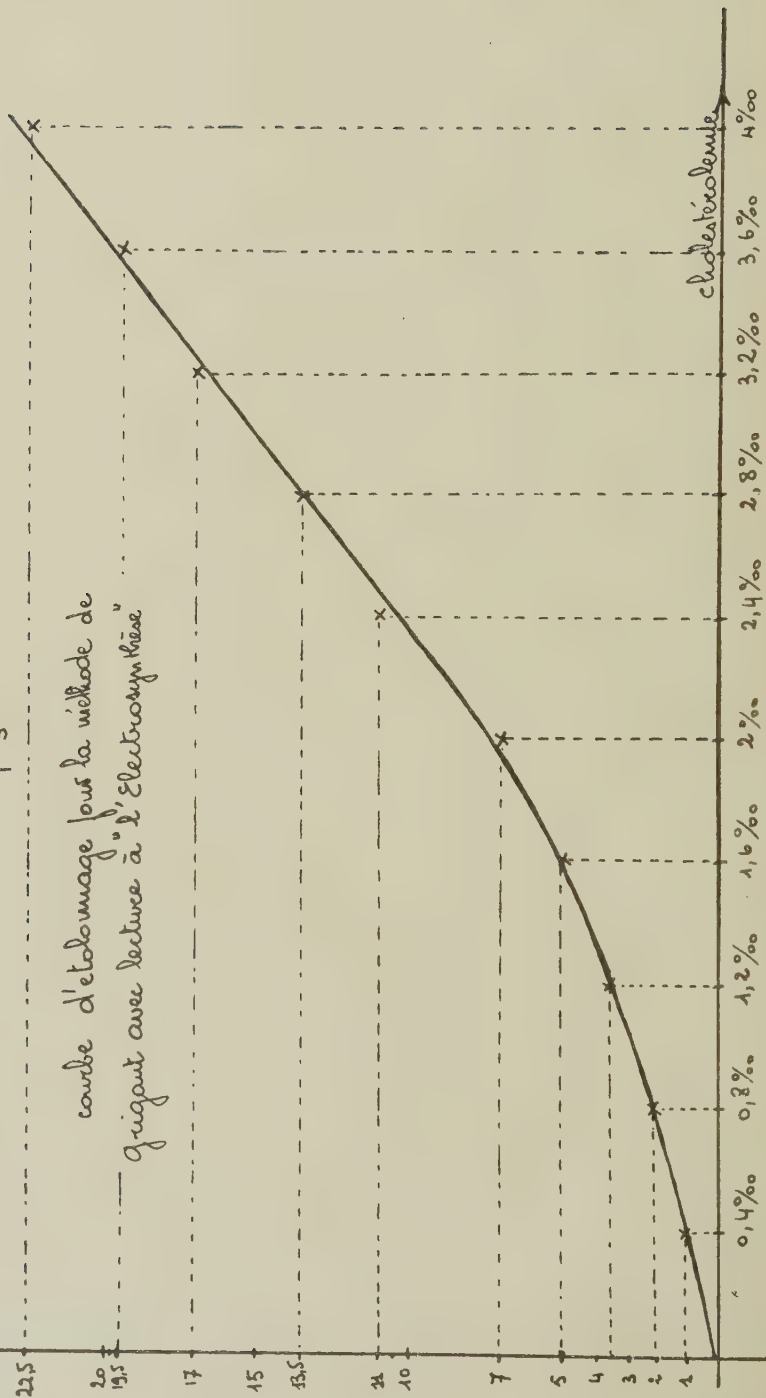
| Volume de solution étalon à 0,16 g 0/00 | Volume de chloroforme | Taux de cholestérol sérique correspondant | Taux de transmission lumineuse |
|-----------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------------|--------------------------------|
| 0,5 cc                                  | 4,5 cc                | 0,4 g 0/00                                | 89 %                           |
| 1 —                                     | 4 —                   | 0,8 —                                     | 81 —                           |
| 1,5 —                                   | 3,5 —                 | 1,2 —                                     | 74 —                           |
| 2 —                                     | 3 —                   | 1,6 —                                     | 68,5 —                         |
| 2,5 —                                   | 2,5 —                 | 2,0 —                                     | 64,5 —                         |
| 3 —                                     | 2 —                   | 2,4 —                                     | 59 —                           |
| 3,5 —                                   | 1,5 —                 | 2,8 —                                     | 55 —                           |
| 4 —                                     | 1 —                   | 3,2 —                                     | 50 —                           |
| 4,5 —                                   | 0,5 —                 | 3,6 —                                     | 46 —                           |
| 5 —                                     | 0 —                   | 4,0 —                                     | 41,5 —                         |

La même courbe d'étalonnage peut servir pour lire le taux de **cholestérol estérifié** à condition de diviser le résultat par deux, puisque le dosage se fait sur 0,4 cc de sérum au lieu de 0,2 cc.

$D = D_2 - D_1$

fig. 1.

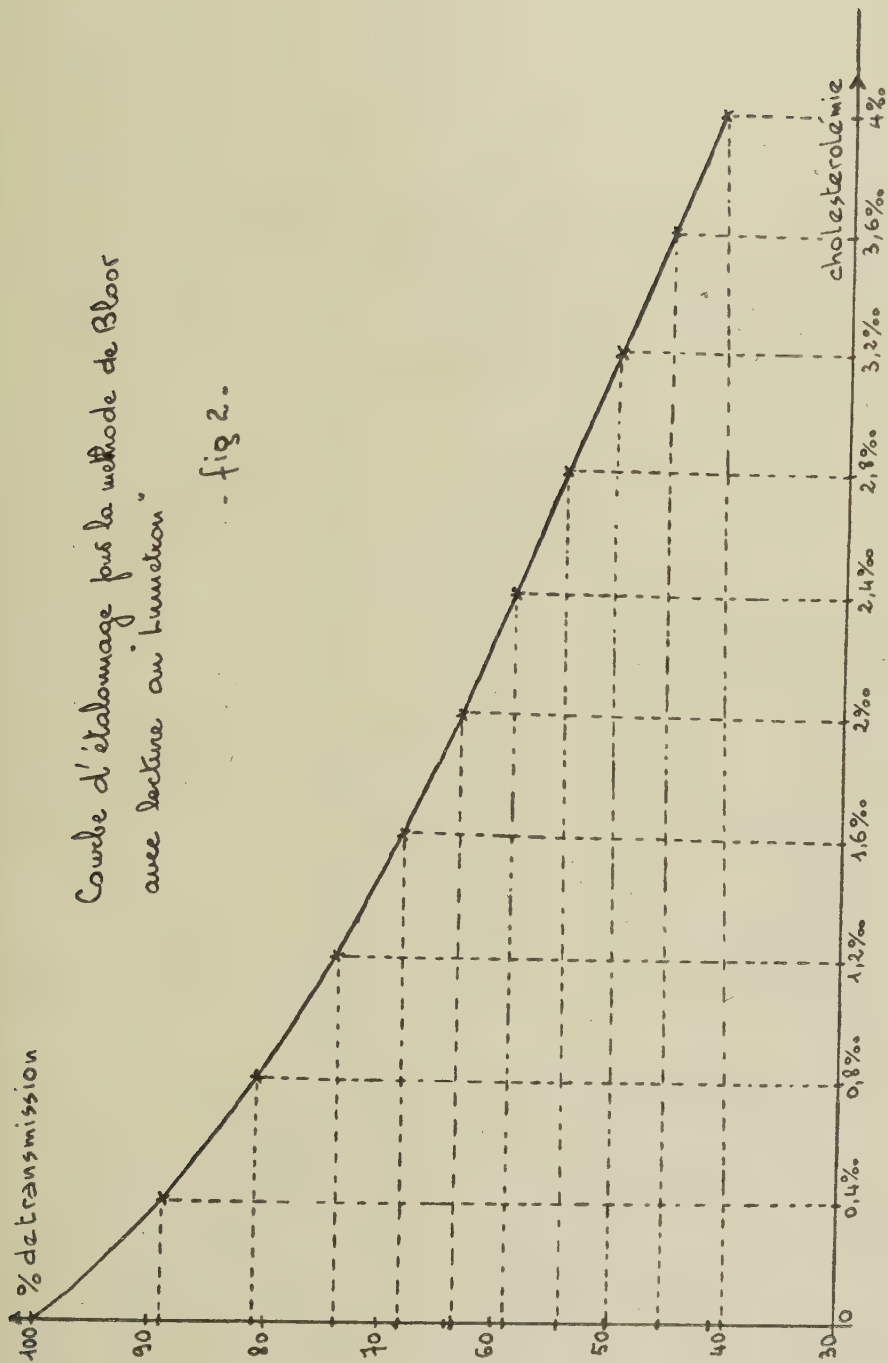
courbe d'étolementage pour la méthode de  
grignat avec lecture à l'Electronsynthèse



100 % de transmission

Courbe d'étalonnage pour la méthode de Bloor  
avec lactine au "hémocritin"

- fig 2 -



## II. — ESSAI D'ETUDE COMPARATIVE DE LA MESURE DU CHOLESTEROL SERIQUE PAR LA METHODE DE GRIGAUT ET PAR LA METHODE AMERICAINE DE BLOOR

### 1) Dosages simultanés du cholestérol total sur 5 vaches :

Dosages par la méthode de Bloor avec lecture au photocolorimètre « Lumétron » (à l'Ecole Vétérinaire de Lyon).

Même dosages par la méthode de Grigaut avec lecture au colorimètre optique à différence de plages (à l'Institut Pasteur de Lyon).

|                                           | Bloor<br>« Lumétron » | Grigaut Colorimètre<br>optique | Différence<br>Bloor - Grigaut |
|-------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Vache N. 1                                | 1,76 g 0/00           | 1,29 g 0/00                    | + 0,47 g 0/00                 |
| Vache N. 2<br>(corps étrangers digestifs) | 2,06 —                | 1,43 —                         | + 0,63 —                      |
| Vache N. 3<br>(bronchite vermineuse)      | 1,60 —                | 0,87 —                         | + 0,73 —                      |
| Vache N. 4<br>(Coccidiose)                | 1,34 —                | 0,60 —                         | + 0,74 —                      |
| Vache N. 5                                | 1,42 —                | 0,58 —                         | + 0,84 —                      |

### 2) Dosages simultanés du cholestérol total sur 5 chiens.

Mêmes conditions que pour les dosages précédents.

|            | Bloor<br>« Lumétron » | Grigaut Colorimètre<br>optique | Différence<br>Bloor - Grigaut |
|------------|-----------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Chien N. 1 | 2,18 g 0/00           | 1,14 g 0/00                    | + 1,04 g 0/00                 |
| Chien N. 2 | 4,00 —                | 2,84 —                         | + 1,16 —                      |
| Chien N. 3 | 2,58 —                | 1,15 —                         | + 1,43 —                      |
| Chien N. 4 | 2,30 —                | 1,27 —                         | + 1,03 —                      |
| Chien N. 5 | 2,00 —                | 1,30 —                         | + 0,70 —                      |

### 3) Dosages simultanés du cholestérol total sur 5 animaux d'espèces différentes.

Dosages réalisés entièrement à l'Ecole Vétérinaire de Lyon par la méthode de Grigaut avec lecture au photocolorimètre « Electrosynthèse » et par la méthode de Bloor avec lecture au photocolorimètre « Lumétron ».

|                         | Bloor<br>« Lumétron » | « Electrosynthèse »<br>Grigaut | Différence<br>Bloor - Grigaut |
|-------------------------|-----------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Chèvre<br>(Fluorose)    | 1,16 g 0/00           | 0,70 g 0/00                    | + 0,46 g 0/00                 |
| Poulliche               | 1,63 —                | 0,77 —                         | + 0,86 —                      |
| Vache N. 1              | 1,63 —                | 0,96 —                         | + 0,86 —                      |
| Vache N. 2<br>(Purpura) | 1,82 —                | 1,01 —                         | + 0,81 —                      |
| Veau                    | 0,36 —                | 0,80 —                         | — 0,44 —                      |

### 4) Conclusions :

De ces premiers dosages de cholestérol total faits simultanément avec deux méthodes, il apparait que la méthode de Bloor avec lecture au photocolorimètre « Lumétron » donne le plus souvent - un dosage faisant exception - des taux de cholestérol nettement supérieurs à ceux obtenus par la méthode de Grigaut. Chez la vache, la différence moyenne entre les résultats semble être de 0,75 g 0/00 au profit de la méthode de Bloor, alors que chez le chien elle est de 1,10 g 0/00 environ dans 3 cas sur 5, mais ces chiffres ont peu de valeur étant donné le nombre restreint de dosages effectués.

### **III - ETUDE DES CAUSES POSSIBLES DE VARIATION DES RESULTATS DANS UNE MEME METHODE DE DOSAGE**

Etant donné le manque de concordance entre les résultats obtenus au cours des dosages précédents nous avons voulu connaître l'influence d'un certain nombre de facteurs dans chaque méthode.

#### **1) Méthode de Bloor avec lecture au photolorimètre « Lumétron »**

##### **a) Variations de la courbe d'étalonnage : (fig. 3)**

Variations en fonction :

— de l'âge de la solution étalon de cholestérol servant à établir la courbe d'étalonnage.

— de la température à laquelle repose la solution pendant la coloration, le temps de repos étant toujours de neuf minutes à l'obscurité.

— de la précision dans le prélèvement des réactifs servant à la coloration du Liebermann.

— de la qualité de certains de ces réactifs.

##### **a) Solution étalon à 0,16 g 0/00 de cholestérol préparée extemporanément :**

courbe (a) Réactif de Liebermann préparé exactement, à la pipette.

Repos de la solution à 27°.

courbe (b) Réactif de Liebermann préparé exactement, à la pipette.

Repos de la solution à 18°, température du laboratoire.

courbe (c) Réactif de Liebermann préparé approximativement dans une éprouvette graduée.  
Repos de la solution à 27°.

courbe (d) Réactif de Liebermann préparé approximativement dans une éprouvette graduée.  
Repos de la solution à 18°, température du laboratoire.

**$\beta$ ) Solution étalon à 0,16 g 0/00 de cholestérol préparée 1 mois avant :**

courbe (e) Réactif de Liebermann préparé exactement, à la pipette.  
Repos de la solution à 27°.

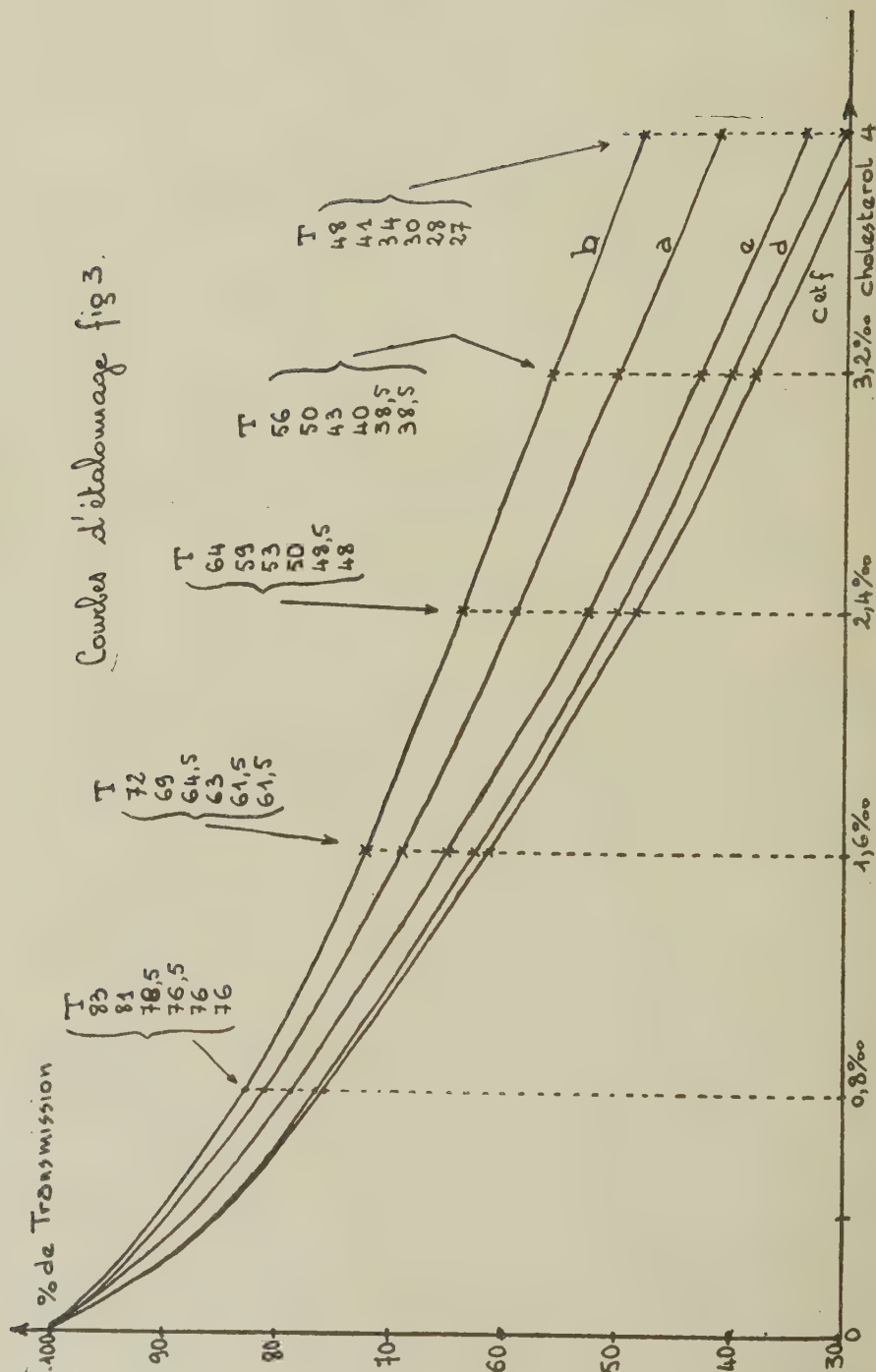
courbe (f) Réactif de Liebermann préparé exactement, à la pipette.  
Repos de la solution à 18°, température du laboratoire.

### **$\gamma$ ) Conclusions.**

— **Comparaison des courbes (a) et (e), (b) et (f) :** une solution étalon de cholestérol conservée un mois à la glacière donne des courbes d'étalonnage très différentes de celles obtenues avec une solution préparée extemporanément. Lors de l'étalonnage il faut donc toujours employer une solution étalon préparée au moment des mesures.

— **Comparaison des courbes (a) et (d), (c) et (d), (e) et (f) :** la température à laquelle repose la solution pendant le développement de la coloration de Liebermann à l'obscurité influe nettement sur la courbe d'étalonnage obtenue avec une solution étalon préparée extemporanément. Il faut donc toujours laisser reposer la solution à la même température, pour obtenir des mesures comparables : 27° par exemple ou 18°. Si l'on veut se soustraire à cet impératif pour opérer à la température du laboratoire assez peu variable malgré tout, on limite les erreurs en construisant les courbes correspondant aux températures extrêmes enregistrées et en se servant de la courbe moyenne tracée entre ces courbes extrêmes. Les températures extrêmes étant par exemple 18° et 27° pour lire une cholestérolémie de 2 g 0/00 sur le graphique, on risque de commettre une erreur maximum de 0,2 g 0/00 en plus ou en moins.

Courbes d'étalementage fig 3.



— Comparaison des courbes (a) et (c), (b) et (d) : La précision dans le prélèvement des réactifs servant à la coloration de Liebermann est importante à observer en particulier pour l'acide sulfurique dont le volume variait surtout au cours de nos expériences.

b) Variations des résultats de dosage du cholestérol total sur des sérums.

$\alpha$ ) Etude de l'influence de la qualité de l'acide sulfurique du réactif de Liebermann et de la température de coloration sur des sérums de bœuf.

Réactif de Liebermann préparé exactement à la pipette  
développement de la coloration pendant neuf minutes à l'obscurité et lecture au bout de la 10ème minute  
lectures sur la courbe d'étalonnage (a)

**Expérience N° 1 :**

acide sulfurique ancien ayant subi de nombreux prélèvements

coloration des solutions extractives à 27°

Les colorations obtenues sont trop fortes et illisibles.

**Expérience N° 2 :**

acide sulfurique ancien ayant subi de nombreux prélèvements

coloration des solutions extractives à la température du laboratoire (22°).

Bœuf I : 1,14 g 0/00

Bœuf II : —

Bœuf III : 2,20 g 0/00

**Expérience N° 3 :**

acide sulfurique neuf

coloration des solutions extractives à 27°

Bœuf I : 2,04 g 0/00

Bœuf II : 2,12 g 0/00

Bœuf III : 2,40 g 0/00

**Expérience N° 4 :**

acide sulfurique neuf

coloration des solutions extractives à la température du laboratoire (22°).

Bœuf I : 1,90 g 0/00

Bœuf II : —

Bœuf III : 2,28 g 0/00

**$\beta$ ) Etude de l'influence de l'exactitude dans le prélèvement des réactifs servant à la coloration de Liebermann et de la température de coloration sur un sérum de poulet :**

Etude sur un mélange de plusieurs sérums de poulet pour obtenir un échantillon unique de volume suffisant

Développement de la coloration pendant neuf minutes à l'obscurité et lecture au bout de la 10ème minute.

**Lectures faites sur la courbe d'étalonnage (a)**

**Expérience N° 5 :**

Réactif de Liebermann préparé exactement à la pipette

Coloration de la solution extractive à 27°

Prise d'essai = 1 cc de sérum                      taux : 2,40 g 0/00

**Expérience N° 6 :**

Réactif de Liebermann préparé exactement à la pipette

Coloration de la solution extractive à 27°

Prise d'essai = 1 cc de sérum + 0,002 g  
de cholestérol pur                      illisible, coloration trop forte

**Expérience N° 7 :**

Réactif de Liebermann préparé approximativement dans une éprouvette graduée

Coloration de la solution extractive à 27°

Prise d'essai = 1 cc de sérum                      taux : 2,16 g 0/00

**Expérience N° 8 :**

Réactif de Liebermann préparé exactement à la pipette

Coloration à la température du laboratoire

Prise d'essai = 1 cc de sérum                      taux : 1,40 g 0/00

**Expérience N° 9 :**

Réactif de Liebermann préparé approximativement dans une éprouvette graduée

Coloration à la température du laboratoire

Prise d'essai = 1 cc de sérum                      taux : 1,26 g 0/00

### Expérience N° 10 :

Réactif de Liebermann préparé approximativement dans une éprouvette graduée

Coloration de la solution extractive à la température du laboratoire

Prise d'essai = 1 cc de sérum + 0,002 g.  
de cholestérol pur

taux : 2,70 g 0/00

### Lectures faites sur la courbe d'étalonnage (e)

|                                              |                   |
|----------------------------------------------|-------------------|
| Expérience n° 11 : mêmes conditions que n° 5 | aux : 1,92 g 0/00 |
| Expérience n° 12 : — — — n° 6                | — 4,04 g 0/00     |
| Expérience n° 13 — — — n° 7                  | — 1,84 g 0/00     |
| Expérience n° 14 — — — n° 8                  | — 1,22 g 0/00     |
| Expérience n° 15 — — — n° 9                  | — 0,92 g 0/00     |
| Expérience n° 16 — — — n° 10                 | — 2,22 g 0/00     |

### Lectures faites sur la courbe d'étalonnage (d)

|                                              |                    |
|----------------------------------------------|--------------------|
| Expérience n° 17 : mêmes conditions que n° 5 | taux : 1,60 g 0/00 |
| Expérience n° 18 — — — n° 6                  | — 3,45 g 0/00      |
| Expérience n° 19 — — — n° 7                  | — 1,41 g 0/00      |
| Expérience n° 20 — — — n° 8                  | — 1,10 g 0/00      |
| Expérience n° 21 — — — n° 9                  | — 0,80 g 0/00      |
| Expérience n° 22 — — — n° 10                 | — 2,94 g 0/00      |

### Influence de la température à laquelle se fait la coloration de la solution extractive

| N° des expériences | 27°         | Température du laborat. | Différences |
|--------------------|-------------|-------------------------|-------------|
| 3 et 4             | 2,04 g 0/00 | 1,90 g 0/00             | 0,14 g 0/00 |
| 3 et 4             | 2,40 —      | 2,28 —                  | 0,12 —      |
| 5 et 8             | 2,40 —      | 1,40 —                  | 1,00 —      |
| 7 et 9             | 2,16 —      | 1,26 —                  | 0,90 —      |
| 11 et 14           | 1,92 —      | 1,22 —                  | 0,70 —      |
| 13 et 15           | 1,84 —      | 0,92 —                  | 0,92 —      |
| 17 et 20           | 1,60 —      | 1,10 —                  | 0,50 —      |
| 19 et 21           | 1,41 —      | 0,80 —                  | 0,61 —      |

La température à laquelle se fait la coloration de la solution extractive ne semble pas avoir une grande influence dans le dosage du cholestérol sérique des bovins, par contre elle a une influence très

nette sur les résultats du dosage chez le poulet : les taux de cholestérol obtenus par coloration à la température du laboratoire, voisine de 22° sont très inférieurs à ceux obtenus par coloration à 27° bien que les dosages soient faits sur un même sérum, la différence est de 0,75 g 0/00. Par conséquent, il est nécessaire de faire la coloration toujours à 27° comme le précise la méthode de Bloor.

**Influence de l'exactitude dans le prélèvement des réactifs servant à la coloration de Liebermann.**

| N° des expériences | Réactif de Liebermann préparé exactement | Réactif de Liebermann préparé approximativement | Différences |
|--------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------|
| 5 et 7             | 2,40 g 0/00                              | 2,16 g 0/00                                     | 0,24 g 0/00 |
| 8 et 9             | 1,40 —                                   | 1,26 —                                          | 0,14 —      |
| 11 et 13           | 1,92 —                                   | 1,84 —                                          | 0,08 —      |
| 14 et 15           | 1,22 —                                   | 0,92 —                                          | 0,30 —      |
| 17 et 19           | 1,60 —                                   | 1,41 —                                          | 0,19 —      |
| 20 et 21           | 1,10 —                                   | 0,80 —                                          | 0,30 —      |

Ce facteur possède une certaine influence, non négligeable comme le montrent la plupart des expériences, mais beaucoup moins importantes qu'on aurait pu le penser en voyant la différence des courbes d'étalonnage lorsque ce facteur varie.

Il est donc important pour obtenir des résultats comparables de mesurer avec précision les réactifs nécessaires à la coloration.

**Influence de la qualité de l'acide sulfurique employé pour la coloration de Liebermann**

| N° de l'expérience | Acide sulf. ancien | Acide sulf. neuf | Différence  |
|--------------------|--------------------|------------------|-------------|
| 2 et 4             | 1,14 g 0/00        | 1,90 g 0/00      | 0,76 g 0/00 |
|                    | 2,20 —             | 2,28 —           | 0,08 —      |

Ces deux résultats ne permettent pas de conclure, surtout qu'ils sont très différents l'un de l'autre.

Influence de l'âge de la solution étalon de cholestérol à 0,16 g 0 00 employée pour obtenir la courbe d'étalonnage

| N° des expériences | Solution étalon vieille de 1 mois | Solution étalon fraîche | Différences |
|--------------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------|
| 5 et 11            | 1,92 g 0/00                       | 2,40 g 0/00             | 0,48 g 0/00 |
| 6 et 12            | 4,04 —                            | —                       | —           |
| 7 et 13            | 1,84 —                            | 2,16 —                  | 0,32 —      |
| 8 et 14            | 1,22 —                            | 1,40 —                  | 0,18 —      |
| 9 et 15            | 0,92 —                            | 1,26 —                  | 0,34 —      |
| 10 et 16           | 2,22 —                            | 2,70 —                  | 0,48 —      |

En prenant une solution étalon de cholestérol préparée depuis 1 mois pour construire la courbe d'étalonnage, on obtient des résultats inférieurs à ceux qu'on devrait obtenir en employant une solution de cholestérol préparée extemporanément. La différence varie entre 0,2 et 0,5 g 0 00. Donc chaque fois que l'on fait un étalonnage, il faut préparer la solution étalon au moment de son emploi.

#### Etude de la justesse de la méthode.

| N° des expériences | Prise d'essai 1 cc de sérum | 1 cc de sérum + 0,002 g de cholestérol | Différences |
|--------------------|-----------------------------|----------------------------------------|-------------|
| 5 et 6             | 2,40 g 0/00                 | —                                      | —           |
| 9 et 10            | 1,26 —                      | 2,70 g 0/00                            | 1,44 g 0/00 |
| 11 et 12           | 1,92 —                      | 4,04 —                                 | 2,12 —      |
| 15 et 16           | 0,92 —                      | 2,22 —                                 | 1,30 —      |
| 17 et 18           | 1,60 —                      | 3,45 —                                 | 1,85 —      |
| 21 et 22           | 0,80 —                      | 2,94 —                                 | 2,14 —      |

L'adjonction de 0,002 g de cholestérol à 1 cc de sérum correspond à une augmentation de son taux en cholestérol de 2 g 0 00 on retrouve cette augmentation à 0,15 g 0 00 près environ en confrontant les expériences 11 et 12, 17 et 18. Pour les expériences 9 et 10, 15 et 16, le manque de respect des conditions optima de coloration de la solution extractive (température 27 degrés et réactif de Liebermann préparé avec précision) entraîne un abaissement de moitié environ du résultat obtenu sur le sérum seul, il est logique de penser que le cholestérol ajouté subit la même diminution lors du dosage ; ceci expli

que que l'adjonction de 0,002 g de cholestérol dans ces conditions entraîne seulement une différence de résultat de 1,35 g 0/00 environ.

## 2) Méthode de Grigaut avec lecture au photocolorimètre.

Ces études ont été faites à Toulouse par les Professeurs Darras pen, Florio et leur élève Pons.

**a) Influence des erreurs sur la quantité d'acide sulfurique employée dans la coloration de Liebermann.** Si l'on verse seulement une goutte en trop, la coloration s'intensifie beaucoup, donc bien verser 5 gouttes d'acide, et éliminer les premières gouttes sortant de la pipette qui sont toujours plus grosses.

**b) Influence de la qualité des réactifs de la coloration de Liebermann sur la courbe d'étalonnage.**

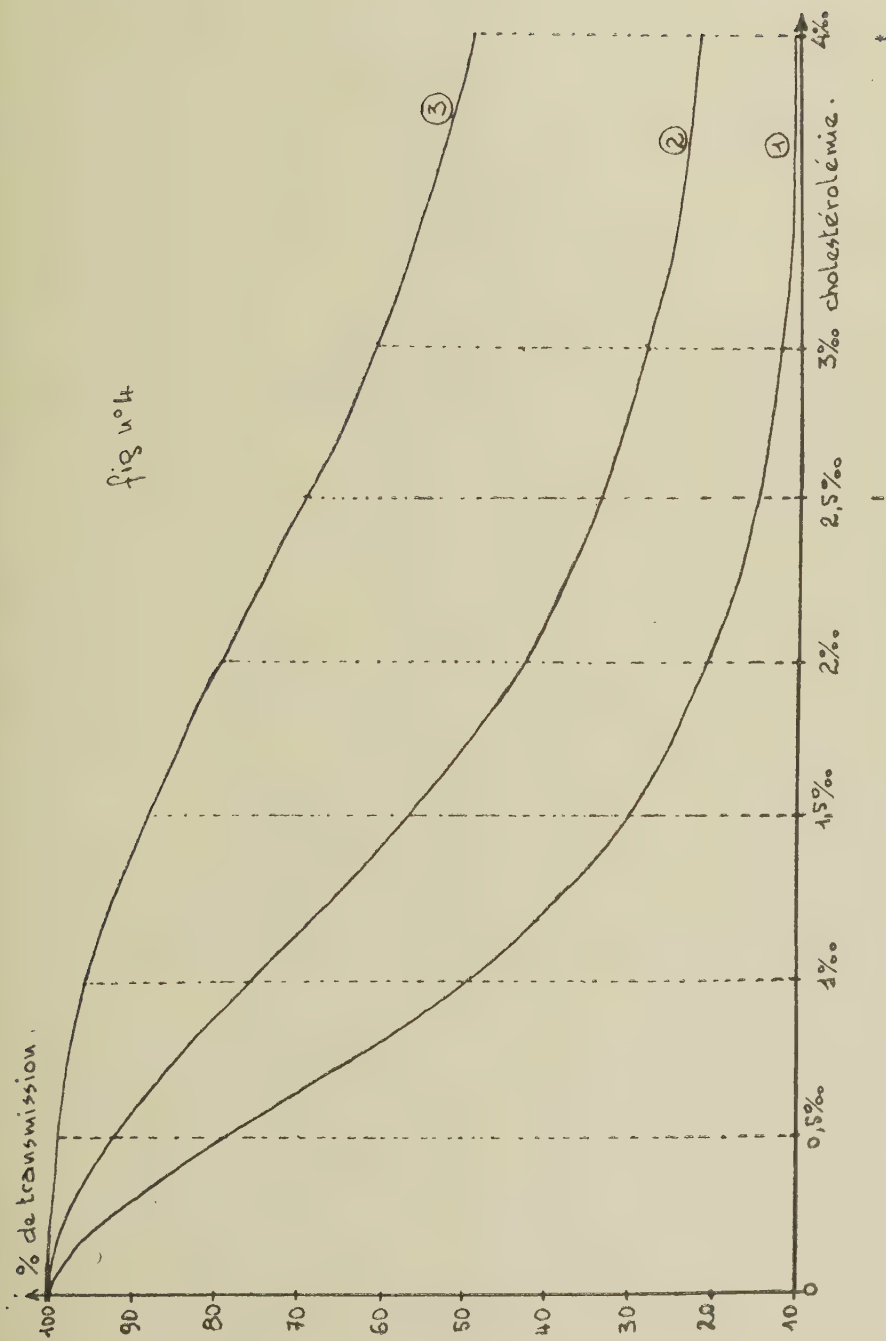
La courbe d'étalonnage varie au fur et à mesure que s'altèrent ces réactifs sous l'effet principalement de la lumière et de l'humidité introduite au cours des prélèvements surtout (fig. n. 4).

**Réactifs de très bonne qualité :** la courbe 1 est très descendante entre 0 et 2,5 g 0/00 et très plate ensuite.

| Taux de cholestérol sanguin | Taux de transmission lumineuse pour la courbe N. 1 | Taux de transmission lumineuse pour la courbe N. 2 | Taux de transmission lumineuse pour la courbe N. 3 |
|-----------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 0 g 0/00                    | 100 %                                              | 100 %                                              | 100 %                                              |
| 0,5 —                       | 79 —                                               | 92 —                                               | 98 —                                               |
| 1,0 —                       | 50 —                                               | 76 —                                               | 96 —                                               |
| 1,5 —                       | 30 —                                               | 57 —                                               | 88 —                                               |
| 2,0 —                       | 21 —                                               | 43 —                                               | 79 —                                               |
| 2,5 —                       | 15 —                                               | 34 —                                               | 69 —                                               |
| 3,0 —                       | 12 —                                               | 28 —                                               | 61 —                                               |
| 4,0 —                       | 11 —                                               | 22 —                                               | 49 —                                               |

**Réactifs de qualité moyenne :** la courbe 2 est plus plate dans son ensemble et plus élevée.

**Réactifs de mauvaise qualité :** la courbe 3 est encore plus plate et plus élevée sur le graphique.



**Conclusions :** Il faut employer des réactifs bien conservés dans des flacons hermétiquement clos, en verre coloré, et prélever en une seule fois les quantités de réactifs nécessaires pour une série de dosages, le même jour, car l'altération des réactifs modifie beaucoup la coloration de Liebermann, comme on peut s'en apercevoir sur les courbes d'étalonnage. Périodiquement, il est nécessaire de construire une nouvelle courbe d'étalonnage, les réactifs s'étant altérés de façon sensible.

**c) Influence du temps de développement de la réaction colorée.**

Etude sur une solution chloroformique de cholestérol à 1 g 0/00 après coloration de Liebermann, cette solution correspond à la solution extractive d'un sérum à 2,5 g 0/00 de cholestérol.

| Temps de coloration | Taux de transmission lumineuse |
|---------------------|--------------------------------|
| 15 minutes          | 77 %                           |
| 30 —                | 28,5 —                         |
| 45 —                | 23 —                           |
| 60 —                | 24 —                           |
| 75 —                | 26 —                           |
| 90 —                | 27 —                           |

**Conclusions :**

L'apparition de la coloration verte se fait lentement dans le temps elle passe par un maximum, puis regresse ensuite, et c'est pourquoi la méthode Grigaut préconise d'attendre 30 minutes avant de lire la coloration ; à ce moment la coloration est près de son maximum et varie peu avec le temps.

Mais pour avoir des mesures toujours comparables, il faut se maintenir au temps choisi une fois pour toutes : 30 minutes par exemple.

#### IV. - VALEURS MOYENNES DE LA CHOLESTEROLEMIE ET DU RAPPORT E/T NORMAUX CHEZ LES DIFFERENTES ESPECES DOMESTIQUES ETABLIES PAR LA METHODE DE GRIGAUT ET LA METHODE DE BLOOR

Nous indiquons les chiffres extrêmes entre lesquels peut varier la cholestérolémie normale ou le rapport E/T normal (rapport cholestérol estérifié/cholestérol total).

Pour chaque espèce il a été procédé à 20 essais au moins sur des animaux considérés comme normaux, après examen clinique minutieux.

##### I) Dosage par la méthode de Grigaut avec lecture au photocolorimètre

Ces mesures ont été faites à Toulouse par les Professeurs Darrazpen et Florio au cours de recherches sur la cholestérolémie normale des animaux.

|                                       | Chien     | Vache     | Cheval    | Mouton | Porc      | Poulet    |
|---------------------------------------|-----------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|
| Cholestérol<br>total en g 0/00        | 0,85-1,80 | 0,60-1,45 | 0,40-0,80 |        | 1,05-1,60 | 0,95-1,40 |
| Cholestérol<br>estérifié en<br>g 0/00 | 0,45-0,95 | 0,30-0,75 | 0,25-0,60 |        | 0,50-1,00 | 0,55-0,80 |
| E / T                                 | 0,40-0,60 | 0,55-0,65 | 0,65-0,70 |        | 0,70-0,80 | 0,70-0,80 |

2) Dosages par la méthode de Bloor avec lecture au photolorimètre type « Lumétron ».

|                                 | Chien     | Vache     | Cheval    | Mouton    | Porc | Poulet    |
|---------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|-----------|
| Cholestérol total en g 0/00     | 2,20-2,90 | 1,50-2,00 | 1,20-1,60 | 0,65-1,05 |      | 1,60-1,90 |
| Cholestérol estérifié en g 0/00 | 0,85-1,35 | 0,45-0,85 | 0,50-0,70 | 0,30-0,50 |      | 1,10-1,30 |
| E / T                           | 0,35-0,50 | 0,30-0,45 | 0,35-0,50 | 0,40-0,50 |      | 0,65-0,70 |

3) Conclusions :

Différences moyennes entre les valeurs données par la méthode de Bloor et la méthode Grigaut :

|        | Bloor-Grigaut pour le cholestérol total | Bloor-Grigaut pour le cholestérol estérifié | Bloor-Grigaut pour le cholestérol rapport E/T |
|--------|-----------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Chien  | + 1,20                                  | + 0,40                                      | — 0,10                                        |
| Vache  | + 0,70                                  | + 0,15                                      | — 0,20                                        |
| Cheval | + 0,80                                  | + 0,20                                      | — 0,25                                        |
| Poulet | + 0,55                                  | + 0,50                                      | — 0,10                                        |

La méthode de Bloor avec lecture au photolorimètre type « Lumétron » donne des résultats nettement supérieurs à ceux obtenus avec la méthode Grigaut pour le cholestérol total et le cholestérol estérifié.

Cependant il faut remarquer que le cholestérol estérifié n'augmente pas dans les mêmes proportions que le cholestérol total puisque le rapport E / T obtenu par la méthode de Bloor est toujours inférieur à celui obtenu par la méthode de Grigaut.

## CONCLUSION

De cette étude sur le cholestérol il découle un certain nombre de conclusions que nous allons envisager successivement :

a) Le cholestérol a des fonctions physiologiques importantes et donne naissance dans l'organisme à des hormones stéroïdes dont l'activité est également primordiale.

b) En pathologie vétérinaire, les variations de la cholestérolémie n'ont le plus souvent pas de valeur diagnostique, mais interprétées en fonction du contexte clinique elles possèdent une bonne valeur pronostique.

c) Les deux méthodes de dosage du cholestérol sérique que nous avons exposées, méthode de Grigaut et méthode de Bloor, voient leurs résultats varier sous l'influence de certains facteurs que nous avons indiqués. Il faut donc pour obtenir avec une même méthode des résultats comparables entre eux, opérer toujours dans les mêmes conditions ce qui élimine les variations dues à ces facteurs.

d) La méthode de Bloor donne des chiffres très nettement supérieurs à ceux obtenus avec la méthode de Grigaut ; les valeurs moyennes de la cholestérolémie normales mesurées à l'aide des deux méthodes chez différentes espèces animales en font foi. Aussi est-il nécessaire lorsqu'on indique un résultat de dosage du cholestérol sérique de préciser la méthode employée, afin de conserver à ce résultat toute sa signification lors de la comparaison avec les valeurs normales.

e) Il est permis de douter de la possibilité d'accéder à la connaissance de la valeur réelle de la cholestérolémie par l'emploi de deux méthodes qui ne donnent pas des résultats identiques pour un même sérum ; cependant ces méthodes conservent une valeur certaine puisqu'elles permettent d'apprécier les variations de la cholestérolémie, et à travers elles les réactions de l'organisme soumis à l'épreuve de la maladie.

*Vu :*

**LE DIRECTEUR DE L'ÉCOLE  
VÉTÉRINAIRE DE LYON  
TAPERNOUX**

**LE PROFESSEUR  
DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE  
FLORIO**

**LE DOYEN DE LA FACULTÉ  
DE MÉDECINE DE LYON  
HERMANN**

**LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE  
LEVRAT**

*Vu et permis d'imprimer :*  
LYON, le 21 Novembre 1960

**LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ :  
M. P. LOUIS**

## BIBLIOGRAPHIE

- ASTIE (L). — Les variations de la cholestérolémie au cours de l'évolution de quelques affections internes du cheval et du chien. — « Thèse Doct. Vét. » Toulouse 1930.
- BALAR (R.). — La cholestérolurie. «Thèse Doct. Pharmacie», Nancy 1953.
- BALL (V). — L'athérome aortique chez l'homme et les oiseaux. — Maloine Paris, 1907.
- BENARD (H) et CHABROL (E). — Origine et destinée du cholestérol. — « Presse Médicale », 1952, 60, n. 75 1609 (Journées du cholestérol et de la nutrition, Vittel 5, 6, 7 Sept. 1952).
- CAMPREDON (G). — Contribution à l'étude du rapport cholestérol total/phospholipides dans le diagnostic et le pronostic de l'insuffisance hépatorenale du chien. — « Thèse Doct. Vét. » Lyon, 1958.
- CASTAIGNE (J). — L'évolution des idées sur la valeur clinique et pronostique de l'hypo et hypercholestérolémie. — « Le Journal Médical Français », Août 1937.
- CONN, VOGEL, LUIS, FAJAN. — Le cholestérol sérique est-il précurseur des stéroïdes surrénaux. — « Instantanés médicaux » 1950, n. 7, 166.
- COTTE (J). — Hypocholestérolémiant. — « Officine et techniques », 1959 IV. n. 3.
- DARRASPEN (E) et FLORIO (R)
- La cholestérolémie dans les néphrites du chien. — « C. R. Soc. Biol », 16 janvier 1937, p. 155.
  - Cholestérolémie et affections oculaires du chien. — « Revue Méd. Vét. » Mai 1937.
  - Contribution à l'étude des ictères chez le cheval et le chien. — « Rev. Méd. Vét. » Août 1939.
  - Cholestéatomes cérébraux et syndrome Immobilité du cheval. — « Allevamento del Mondo » 1949 n. 4, 107.
- DARRASPEN, FLORIO et EMANGEARD. — Le rapport sérique « Cholestérol estérifié : cholestérol total » chez quelques animaux domestiques. « — C. R. Soc. Biol » 1949, CXLIII, 1419.
- DARRASPEN, FLORIO, EMANGEARD et LACAZE. — Sur les variations du rapport sérique « Cholestérol estérifié : cholestérol total » dans

l'insuffisance hépatique du cheval et du chien. — « C. R. Soc. Biol. » 1949, CXLIII, 1422.

DARRASPEN, FLORIO et MEYMANDI

— Des hépatonéphrites aiguës dans la Maladie de Carré. « Rev. Méd. Vét. » Mai 1938.

— Le syndrome humoral dans les hépatonéphrites aiguës du chien, secondaires à la Maladie de Carré. — « Soc. de Pathologie comparée », 12 juillet 1938.

— Des modifications humorales dans certaines variétés de tumeurs oculaires, cérébrales et viscérales chez les équidés et les carnivores domestiques. — « Rev. Méd. Vét. » Fév. 1939.

DARRASPEN (E), FLORIO (R), MUREAU (J). — Cholestérolémie et pouvoir cholestérolitique du sérum sanguin chez le chien et le cheval. — « C. R. Soc. Biol. » 1943 CXXXVII, 472.

ENSELME, LEMAIRE (A), COTTET (J), GUICHARD (A.), TIGAUD (J). — Réflexions au sujet de l'athérosclérose provoquée du lapin. « Presse médicale » 20 juin, 1959, 67, n. 30 1227.

FAURE (M). — Biochimie du cholestérol. — « Officine et technique » 1959 V, n. 2.

FLORIO (R). — Cours magistral de pathologie médicale.

— Sur l'insuffisance hépatique des animaux domestiques et son pronostic-Monographie — « Bull. Acad. Vét. » 1952, 7, 263.

FLORIO (R), BRIZARD (A) et LADRAT (J). — Réflexions sur quelques cas de morve chez le cheval.

GODFRAIN (JC). Une grande famille chimique - les stérols. — Rev. Méd. Vét. » 1942, V.

GUILLOUX (F). Variations de la cholestérolémie dans les ascites des carnivores domestiques. — «Thèse Doc. Vét.» Toulouse 1939.

LABADIE (P). — Acquisitions récentes sur la biologie du cholestérol. — Revue du Praticien » 1958, VIII, n. 31.

LEMAIRE (A) et COTTET (J). Le syndrome biochimique de l'athérosclérose animale. — « Presse médicale » 12 oct. 1955, 63, n. 66 1339.

MARTIN (A), BRIZARD (A), FLORIO (R). — De quelques modifications humorales dans certaines formes d'eczéma chez le chien. — « Rev. Méd. Vét. » Oct. 1937.

MARTIN (A), DARRASPEN (E), BRIZARD (A), FLORIO (R). — Cholestérolémie et eczéma. — « Rev. Méd. Vét. » Sept-Oct. 1941.

PHOTOVOLT CORPORATION - N.-Y. — Manuel de dosage biologiques et cliniques Lumétron.

PLATIS (C). — Contribution à l'étude de l'obésité chez le chien. — « Thèse Doct. Vét. » Toulouse 1942.

PONS (J) : Cholestérol et Cholestérolémie : Précisions sur le dosage du cholestérol sérique « Thèse Doct. Vét. ». Toulouse 1955.

- ROBIN (V) et CHARTON (A.). — La lipoïdose cornéenne du chien. - « Rev. Méd. Vét. » 1939, CXV, n. 6.
- SARRAT (P). Variations du taux de la cholestérine chez les bovins. — « Thèse Doct. Vét. » Toulouse 1932.
- VELU (P), VELU (M), et MILLERANT (JJ). — La méthode turbidimétrique de dosage du cholestérol sanguin. — Son application en médecine vétérinaire. — « Bull. Acad. Vét. » Juillet 1957 XXX.

## TABLE DES MATIERES

|                                                                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Introduction . . . . .                                                                                                                                                                 | 11 |
| Première partie :                                                                                                                                                                      |    |
| I. — Le cholestérol du point de vue chimique ..                                                                                                                                        | 13 |
| II. — Le cholestérol dans l'organisme . . . . .                                                                                                                                        | 15 |
| III. — Le cholestérol en pathologie animale . . . .                                                                                                                                    | 22 |
| Deuxième partie :                                                                                                                                                                      |    |
| I. — Méthodes de dosage du cholestérol sérique                                                                                                                                         | 29 |
| II. — Essai d'étude comparative de la mesure du<br>cholestérol sérique par la méthode de Gri-<br>gaut et par la méthode américaine de Bloor                                            | 40 |
| III. — Etude des causes possibles de variation des<br>résultats dans une même méthode de dosage                                                                                        | 42 |
| IV. — Valeurs moyennes de la cholestérolémie et<br>du rapport E/T normaux chez les différen-<br>tes espèces domestiques établies par la mé-<br>thode de Grigaut et la méthode de Bloor | 53 |
| Conclusions . . . . .                                                                                                                                                                  | 55 |
| Bibliographie . . . . .                                                                                                                                                                | 57 |



